



ANNEE 2010 THESE : 10 – TOU 3 – 4004

# FACTEURS GENETIQUES DE LA RESISTANCE AUX MALADIES CHEZ LE MOUTON

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2009  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Guillaume SALLE**

Né le 04 septembre 1984 à Châteauroux (36)

---

Directeur de thèse : **M. le Professeur Alain DUCOS**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. CALVAS Patrick**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEUR :  
**M. DUCOS Alain**  
**M. JACQUIET Philippe**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE(S) INVITES(S) : Mme MORENO Carole Docteur en Génétique



**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur** : M. A. MILON

**Directeurs honoraires** M. G. VAN HAVERBEKE.  
M. P. DESNOYERS

**Professeurs honoraires** :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE
MENDRES NEGRE		
M. C. LABIE	M. JF. GUELF	
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

**PROFESSEURS CLASSE  
EXCEPTIONNELLE**

M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1°  
CLASSE**

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*  
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*  
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*  
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*  
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*  
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*  
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

<b>PROFESSEURS 2° CLASSE</b>
----------------------------------

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*

M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie et Thérapeutique*

M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistique, Modélisation*

M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*

M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*

Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Réproduction, Endocrinologie*

M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*

M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*

M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

M. **SANS Pierre**, *Productions animales*

Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

<b>INGENIEUR DE RECHERCHE</b>
-----------------------------------

M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique Equine*

M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine, Ophtalmologie*

## **PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*

M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

## **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

<b>MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)</b>
--

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*

M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*

M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*

Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*

Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*

M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*

Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

M. **DOSSIN Olivier**, (DISPONIBILITE) *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du Bétail*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

#### MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL

Mlle **BUCK-ROUCH**, *Médecine interne des animaux de compagnie*  
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*  
M. **SEGUELA Jérôme**, *Médecine interne des animaux de compagnie*  
M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

<b>ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS</b>
---

Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **GIN Thomas**, *Production et pathologie porcine*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*  
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

**A notre Président de thèse,**

**Monsieur le Professeur Patrick CALVAS**

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, CHU de Toulouse, Hôpital Purpan  
*Service de Génétique Médicale*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,  
Hommages respectueux.

\*\*\*

**A notre Jury de thèse,**

**Monsieur le Professeur Alain DUCOS**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
*Productions animales*

Qui, en tout premier lieu, m'a donné goût à la génétique. Qui m'a fait me poser quelques questions des plus pertinentes. Qui m'a offert les meilleures opportunités pour y répondre. Qui m'a confié ce travail et m'a guidé dans son élaboration.  
Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon plus profond respect.

**Monsieur le Docteur Philippe JACQUIET**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
*Parasitologie et Maladies parasitaires*

Qui me fait l'honneur de participer au jury de cette thèse.  
Qui m'a fait confiance pour me confier les travaux d'une autre thèse.  
Sincères remerciements.

**Madame le Docteur Carole MORENO-ROMIEUX**

Chargée de recherche INRA  
*Station d'Amélioration Génétique des Animaux*

Qui a eu la patience d'accompagner mes premiers pas en génétique. Qui m'a guidé dans une grande partie des travaux présentés ici. Qui fait preuve d'écoute attentive, de bonne humeur et d'une franchise toute diplomatique.  
Qui m'a proposé les travaux d'une autre thèse, et me fait finalement l'honneur de sa présence dans ce jury.  
Qu'elle trouve ici le témoignage de ma reconnaissance.

\*\*\*

**A mes parents,**

Sans qui ce premier aboutissement n'aurait jamais vu le jour. A eux et leur soutien indéfectible, pour qui aucun sacrifice n'a été compté au bonheur de leurs enfants. Un simple « merci » ferait pâle impression devant ces 25 dernières années. Puissent ces quelques pages témoigner un peu mieux mon amour et ma reconnaissance.

**A mon « p'tit » frère,**

Compagnon d'aventures, sans qui la vie n'aurait pas été si drôle. Qui nous a fait cadeau d'un p'tit bonheur prénommée Elisa, pour qui ces quelques pages feront d'abord office de carnet de coloriage et, peut-être un jour, d'ouvrage éventuellement intéressant.

**A Thomas,**

Un peu de temps perdu qui sera, je l'espère, un jour rattrapé ; à un autre petit bout, Cassandra, qui glanera peut-être un jour, elle aussi, quelque information précieuse dans ces quelques pages.

**A ma grand-mère, Odette, et mes grands-parents partis bien trop tôt,**

**A mes compagnons d'aventure,**

Ayain & Shyk, les questions qu'ils m'ont fait me poser, eux aussi, et, à leur manière, les opportunités pour y répondre : le « passer outre », les cataplasmes au miel, les midges, la bière, les randos (de lendemain de boom), les grands discours et les phrases cultes ...

Rominou, compagnon d'infortune pour la HRP, pour l'Aneto aussi, sa patience caractéristique, sa générosité, ses analyses tranchées, les bonnes rigolades.

**A mes « bons compagnons », depuis Fermat ou plus récemment, dans le désordre :**

Les dames d'abord, amies, confidentes, un peu de tendresse dans ce monde de brutes ;  
Emma, pour les moments passés ensemble, son soutien durant les années prépa,  
CLE, « l'histologie c'est obligatoire »,  
Marion, sa gentillesse, son caractère,  
Miloute, MB, BA, Popo, Déb.  
Les gentlemen ensuite ;  
Fabien, son cœur gros comme ça sous ses chemises à carreaux façon canadienne, « dans le  
cochon tout est bon », en Bretagne, encore meilleur,  
Bubble, la coloc' improvisée de septembre 2004, le 6-4, la « baille », les blondes,  
Rhymbow, son gers, sa 21, son flocc, son caractère,  
Bali, la makina, la montagne, le rosé à 2000 m,  
Marcho, ses béquilles, ses attelles, ses radios.

**A Michèle Tixier-Boichard et Chung-Ming Chang,**

pour leur encadrement dans mes tout débuts, sans qui je ne serai peut-être pas sur cette voie  
aujourd'hui.

**A Steve Bishop,**

pour m'avoir accueilli dans son équipe le temps d'une étude et avoir guidé mes analyses.

Bei den Tiefseetaucher möchte ich mich noch bedanken, dass sie so nette und coole  
Menschen sind und dass ich mit den, auf dem Feld oder rum einigen Bieren, echt viel Spass in  
München gehabt habe.

## **Table des matières**

<b>Table des illustrations.....</b>	<b>p.12</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>p.14</b>
<b>Partie 1. La résistance aux maladies est un phénomène complexe : comment phénotypiquement évaluer ce caractère ?.....</b>	<b>p.17</b>
1-1 – L’immunité et ses mécanismes complexes.....	p.17
1-1.1 Une immunité innée unique et non-spécifique.....	p.17
1-1.2 Une immunité acquise spécifique de chaque pathogène.....	p.19
1-2 – Comment mesurer la résistance ?.....	p.20
1-2.1 Y-a-t-il un critère idéal pour mesurer la résistance génétique ?.....	p.20
1-2.2 Mise au point de protocole.....	p.21
<b>Partie 2. Les différentes approches d’étude de la résistance génétique : revue des connaissances.....</b>	<b>p.23</b>
2-1 – La résistance génétique est un caractère polygénique.....	p.23
2-2 – Cartographie des gènes de résistance sur le génome ovin : utilisation de marqueurs et approche QTL.....	p.27
2-3 – L’approche gène candidat et mesure d’expression génique pour identifier les gènes de résistance.....	p.31
2-3.1 Etudes d’association.....	p.31
2-3.2 Génomique fonctionnelle.....	p.33
2-4 – Le gène <i>PrP</i> , un gène majeur dans la susceptibilité à la tremblante.....	p.36
<b>Partie 3. Illustrations pratiques : estimation de paramètres génétiques et détection de QTL pour la résistance aux maladies chez le mouton.....</b>	<b>p.40</b>
3-1 – Estimation de paramètres génétiques pour la résistance à l’infestation par des strongles gastro-intestinaux dans des troupeaux commerciaux Texel, Suffolk et Scottish Blackface au Royaume-Uni.....	p.40
3-1.1 Introduction.....	p.40
3-1.2 Matériels et méthodes.....	p.42
3.1.2.1 Animaux et protocole expérimental.....	p.42
3.1.2.2 Analyses statistiques.....	p.43
3.1.2.2.1 Caractères mesurés	
3.1.2.2.2 Analyse préliminaire des caractères continus	
3.1.2.2.3. Statistiques des données à seuil pour <i>Nematodirus spp.</i>	



mesurées	3.1.2.2.4 Modèle linéaire pour les FEC et les performances	
	3.1.2.3 Estimation des paramètres génétiques.....	p.46
	3.1.2.4 Résultats.....	p.47
	3.1.2.4.1 Statistiques de base à propos des données	
	3.1.2.4.2 Héritabilités estimées pour les FEC et les caractères de	
production	3.1.2.5 Discussion.....	p.56
	3.1.2.5.1 A propos des FEC de strongles et de <i>Nematodirus spp.</i>	
	3.1.2.5.2 Corrélations entre caractères	
	3.1.2.5.3 A propos du caractère binaire	
3-2 Détection de QTL pour la résistance à <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser.		
abortusovis.....		p.59
3.2.1 Introduction.....		p.59
3.2.2 Matériels et méthodes.....		p.61
3.2.2.1 Animaux.....		p.61
3.2.2.2 Infection expérimentale.....		p.61
3.2.2.3 Mesures phénotypiques.....		p.62
3.2.2.4 Génotypage et carte génétique.....		p.64
3.2.2.5 Analyses statistiques.....		p.66
3.2.2.6 Analyses unimarqueur.....		p.66
3.2.2.7 Détection de QTL.....		p.66
3.2.2.7.1 Cartographie d'intervalle et le logiciel QTLMAP		
3.2.2.7.2 Test de l'hypothèse bi-QTL		
3.2.2.7.2.1 Cartographie d'intervalle multiple avec		
l'option bi-QTL du logiciel QTLMAP		
3.2.2.7.2.2 Adaptation de la méthode de Composite		
Interval Mapping		
3.2.3 Résultats.....		p.72
3.2.3.1 Statistiques des caractères mesurés.....		p.72
3.2.3.2 Décisions prises pour la correction des erreurs de		
génotypage.....		p.72
3.2.3.3 Principales caractéristiques de la carte de liaison.....		p.74
3.2.3.4 Analyse unimarqueur.....		p.78

3.2.3.5 QTL détectés par cartographie d'intervalle.....	p.80
3.2.3.6 Les autres approches focalisant sur le caractère IgM7 sur OAR2.....	p.82
3.2.3.6.1 MIM utilisant l'option bi-QTL de QTLMAP	
3.2.3.6.2 Adaptation du CIM pour la pré-correction des phénotypes par les 3 marqueurs de <i>SLC11A1</i>	
3.2.3.6.3 Adaptation du CIM pour la pré-correction des phénotypes pour l'effet d'un QTL putatif (QTLp)	
3.2.4 Discussion.....	p.87
3.2.4.1 Différences obtenues entre l'étude de 2003 et cette étude avec 6 marqueurs additionnels.....	p.87
3.2.4.2 Limites de l'analyse unimarqueur.....	p.87
3.2.4.3 Le <i>CMH</i> détecté comme ayant un effet sur la résistance à SAO.....	p.88
3.2.4.4 <i>SLC11A1</i> ne semble pas avoir d'effet sur la résistance à SAO chez le mouton.....	p.89
3.2.4.4.1 L'hypothèse d'un QTL n'a pas pu être validée	
3.2.4.4.2 Test de l'hypothèse de deux QTL présents	
3.2.4.4.3 D'autres explications possibles	
3.2.4.5 A propos des autres QTL.....	p.92
3.2.4.6 Pour de futures analyses.....	p.93
3.2.4.6.1 Génotypages de marqueurs supplémentaires	
3.2.4.6.2 TLR4 comme autre candidat ?	
3.2.4.6.3 Etude d'expression	
3.2.4.6.4 Analyse multicaractères	
<b>Partie 4. Sélectionner des animaux résistants aux maladies : possibilités et défis.....</b>	<b>p.95</b>
4-1 La sélection classique pour la résistance aux strongles et aux mammites.....	p.95
4-1-1 Vérifications à faire.....	p.95
4-2-2 Résultats de sélection.....	p.96
4-2 Sélection assistée par gène (SAG) : sélection pour la résistance à la tremblante.....	p.96
4-3 L'utilisation de marqueurs moléculaires en sélection dans la filière ovine.....	p.98

4-3-1 SAM2.....	p.98
4-3-2 La sélection génomique.....	p.99
4-3-3 Intérêts de l'utilisation de marqueurs moléculaires.....	p.99
4-4 Questions à propos de la mise au point d'animaux résistants.....	p.100
4-4-1 Comment utiliser la génétique pour obtenir des animaux génétiquement résistants ? .....	p.100
4-4-2 L'épidémiologie doit être prise en compte.....	p.102
<b>Conclusion.....</b>	<b>p.105</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>p.107</b>

## Table des illustrations

<b>Tableau 1.</b> Maladies majeures du mouton .....	p.16
<b>Tableau 2.</b> Evolution de la résistance/susceptibilité en fonction du stade .....	p.21
<b>Tableau 3.</b> Héritabilités estimées pour la résistance aux maladies majeures du mouton ...	p.26
<b>Tableau 4.</b> QTLs détectés pour la résistance aux maladies chez le mouton (sauf infestation par les strongles et mammites) .....	p.28
<b>Tableau 5.</b> Répartition chromosomique des QTL détectés pour la résistance aux nematodes chez le mouton .....	p.29
<b>Tableau 6.</b> Chromosomes où des QTL significatifs ont été identifiés pour les CCS dans différentes populations ovines européennes .....	p.29
<b>Tableau 7.</b> Caractérisation des ESST chez les petits ruminants.....	p.38
<b>Tableau 8.</b> Plan national de lutte contre la tremblante au Royaume-Uni.....	p.38
<b>Tableau 9.</b> Prévalence de la résistance d' <i>Haemonchus contortus</i> contre divers anthelminthiques en Afrique du Sud et Amérique du sud.....	p.41
<b>Tableau 10.</b> Effets aléatoires considérés pour chaque caractère dans chaque race.....	p.47
<b>Tableau 11.</b> Statistiques de base des données phénotypiques et généalogiques.....	p.48
<b>Tableau 12.</b> Statistiques de base pour les FEC de strongles et de <i>Nematodirus spp.</i> (avant et après transformation logarithmique) pour chaque race.....	p.50
<b>Tableau 13.</b> Résumé des statistiques de base des caractères de production dans chaque race.....	p.52
<b>Tableau 14.</b> Héritabilités estimées pour les FEC et erreurs standards.....	p.53
<b>Tableau 15.</b> Héritabilités estimées pour le caractère binaire dans chaque race N.....	p.53
<b>Tableau 16.</b> Héritabilités et estimations des autres effets aléatoires pour les caractères de production.....	p.54
<b>Tableau 17.</b> Corrélations estimées pour la race Scottish Black Face.....	p.55
<b>Tableau 18.</b> Corrélations estimées pour la race Suffolk.....	p.56
<b>Tableau 19.</b> Corrélations estimées pour la race Texel.....	p.57
<b>Table 20.</b> Nombre de béliers, brebis et agneaux par série d'accouplement.....	p.61
<b>Tableau 21.</b> Notation des paramètres mesurés.....	p.63
<b>Tableau 22.</b> Statistiques des caractères considérés.....	p.69
<b>Tableau 23.</b> Significativité des effets fixes.....	p.69
<b>Tableau 24.</b> Caractéristiques de la carte de liaison.....	p.73

<b>Tableau 25.</b> Comparaison entre la carte calculée et SM4.7.....	p.76
<b>Tableau 26.</b> Résultats de l'analyse unimarqueur pour les caractères de résistance comparés à ceux de Moreno (2003) .....	p.79
<b>Tableau 27.</b> Synthèse des QTL détectés pour la résistance à SAO.....	p.81
<b>Tableau 28.</b> Comparaison des analyses de 2003 et 2009.....	p.88
<b>Tableau 29.</b> Equilibrages entre résistance aux maladies et allèles du CMH.....	p.101
<b>Figure1.</b> Mécanismes de l'immunité.....	p.18
<b>Figure2.</b> Schéma de la structure du CMH ovin.....	p.18
<b>Figure 3.</b> Les différentes approches dans la sélection d'animaux résistants.....	p.21
<b>Figure 4.</b> Technique microarray appliquée à l'étude de cellules cancéreuses.....	p.34
<b>Figure 5.</b> Structure du gène <i>Prp</i> ovin.....	p.37
<b>Figure 6.</b> Illustration du modèle postulé.....	p.45
<b>Figure 7.</b> Graphiques représentant la déviation à la normalité des FEC de strongles avant et après transformation logarithmique.....	p.49
<b>Figure 8.</b> Représentation schématique du protocole expérimental.....	p.62
<b>Figure 9.</b> Représentation schématique des marqueurs génotypés sur OAR2 (les 6 marqueurs additionnels sont indiqués en rouge).....	p.63
<b>Figure 10.</b> Représentation schématique des différentes erreurs de génotypage (les segments colorés représentent les versions alléliques d'un marqueur donné).....	p.65
<b>Figure 11.</b> Distribution des erreurs de génotypage entre les descendants et leurs parents...p.70	
<b>Figure 12.</b> Distribution des erreurs de génotypage par marqueur.....	p.71
<b>Figure 13.</b> Pourcentage de génotypes manquants (après correction) sur l'ensemble du génome.....	p.75
<b>Figure 14.</b> Profil du rapport de vraisemblance pour la cartographie d'intervalle sur OAR2 pour IgM7 .....	p.81
<b>Figure 15.</b> Profils de LRT intra-pères pour la cartographie d'intervalle sur OAR2 pour IgM7.....	p.83
<b>Figure 16.</b> Profil LRT de l'analyse bi-QTL (hypothèse 1 vs 2 QTL).....	p.83
<b>Figure 17.</b> Comparaison entre les profils LRT obtenus avec pré-correction pour l'effet de SLC11A1 et sans pré-correction sur la même sous-population de 23 pères.....	p.86
<b>Figure 18.</b> Comparaison entre les profils LRT obtenus avec pré-correction pour l'effet de QTLp et sans pré-correction sur la même sous-population de 26 pères.....	p.86
<b>Figure 19.</b> Voies de transmission des maladies.....	p.103

## Introduction

La production ovine se rencontre majoritairement dans des régions du monde plutôt difficiles, notamment en termes de pression d'infection. C'est pourquoi cette filière repose fortement sur les moyens de contrôle des pathogènes, notamment l'arsenal classique des médicaments vétérinaires. Au contraire, l'agriculture moderne se concentre désormais sur des considérations écologiques et sur la sécurité des consommateurs, pour qui il est important de disposer d'une alimentation « saine ». Mais au-delà d'un simple revirement des aspirations sociétales, ce changement illustre le besoin urgent de changer le mode de lutte contre les agents infectieux. On trouve par exemple des vers du mouton résistants aux anthelminthiques dans toutes les régions du globe, pour la plupart des espèces de nématodes et pour toutes les classes d'anthelminthiques, ceci aboutissant dans certains cas à l'impossibilité de maintenir l'élevage ovine (Jackson & Coop 2000; Kaplan 2004). De plus ces traitements conduisent à l'accumulation de résidus dans les denrées animales, comme le lait. Même si l'application d'un temps d'attente réglementaire assure la sécurité du consommateur, celui-ci accepte de moins en moins ces moyens de traitement. D'autre part certaines classes de ces médicaments ont une toxicité avérée pour l'écosystème prairial impliqué dans la dégradation des bouses (Lumaret & Errouissi 2002).

Une des solutions les plus efficaces et durables pour contrôler les pathogènes et pallier aux problèmes évoqués est la sélection de moutons qui seraient résistants aux maladies. Malheureusement ces « super-moutons » appartiennent encore et toujours au domaine de l'imaginaire, et sélectionner pour des caractères de résistance pose un nombre conséquent de questions pratiques que nous évoquerons dans cet ouvrage. On concentrera la discussion sur les maladies majeures (voir tableau 1) pour l'industrie ovine sans considérer les défauts congénitaux comme la chondrodysplasie héréditaire ovine (Beever *et al.* 2006), défauts pour lesquels la lutte consiste « simplement » en l'élimination des animaux porteurs de la mutation causale.

La notion de “résistance” doit être en premier lieu précisément définie. La résistance est la capacité de l'hôte à contrôler le pathogène et à ne développer aucun signe clinique ni lésions pathologiques dues à l'infection (Bishop&Morris, 2007). Le concept de “résistance vrai” est parfois employé pour définir les animaux pour qui la contamination n'a jamais lieu. C'est à distinguer de la « tolérance », qui représente la capacité d'être infecté sans exprimer

aucun signe de la maladie, ou bien de la « résilience », terme utilisé pour décrire les animaux capables de maintenir leurs niveaux de production bien qu'étant infectés.

On rappellera brièvement quelques notions d'immunologie afin de comprendre les mécanismes en jeu et de discuter les moyens de mesurer la résistance. La thèse s'attachera ensuite à décrire les connaissances actuelles dans le domaine de la génétique des résistances aux maladies en considérant chaque niveau de variation génétique (polygénique, multigénique et monogénique) et en développant les aspects d'études les plus récents comme la transcriptomique. Ce tableau bibliographique sera illustré par deux études pratiques. Premièrement, l'estimation de paramètres génétiques pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux du mouton complètera l'exposé sur le déterminisme polygénique. Dans un deuxième temps, une étude visant à la détection de régions chromosomiques, autrement appelées Quantitative Trait Loci (QTL), pour la résistance à une bactérie du mouton illustrera le propos sur la variation multigénique. Enfin, la dernière partie de cette thèse envisagera les particularités et les attentions à porter lors de la sélection d'animaux résistants aux maladies.

**Tableau 1.** Maladies majeures du mouton (d'après Moreno 2003)

Type	Disease	Etiology	Major effects	Treatment/prophylaxis
<b>Prion</b>	Scrapie (*)	PrPsc	Neurologic/Pruritus	Culling of diseased animals/breeding
<b>Bacterial infection</b>	Brucellosis*	<i>Brucella spp</i>	Abortion/Epididimitis	Culling of diseased animals
	Enzootic abortion*	<i>Chlamydophila abortus</i>	Abortion	Antibiotics/Vaccine
	Q-fever*	<i>Coxiella burnetii</i>	Abortion	Antibiotics/Vaccine
	Salmonellosis	<i>Salmonella abortusovis</i>	Abortion	Antibiotics
	Mastitis	Mainly <i>Staphylococci</i>	Clinical and subclinical mastitis	Antibiotics/Breeding
	Footrot	<i>Dichelobacter nodosus</i>	Lameness	Antibiotics/Vaccine
	Fleece rot	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	Paratuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Malabsorption syndrome	None
<b>Viral infection</b>	Maedi-Visna	Lentivirus	Neurologic/Mastitis Pneumonia/Arthritis	None
	Bluetongue	Orbivirus	Fever/Catarrhal lesions/Abortion	Vaccine
	Border disease	Pestivirus	Neurologic/Abortion/Diarrhea	None
	Rabies*	Rhabdovirus	Neurologic	Culling of diseased animals/Vaccine
	Orf*	Parapoxvirus	Pustular and scabby lesions	Vaccine
	Pulmonary adenomatosis	Herpesvirus oncornavirus	Pulmonary infection	Culling of diseased animals
<b>Parasitic infestation</b>	Toxoplasmosis*	<i>Toxoplasma gondii</i>	Abortion	Vaccine/Trimetoprim sulfa
	Nematodiasis	<i>Trichostrongylus colubriformis</i> <i>Haemonchus contortus</i> <i>Ostertagia circumcincta</i>	Malabsorption syndrom	Anthelmintics Pasture management Breeding
	Cutaneous myiasis	<i>Oestrus ovis</i>	Rhinitis/Neurologic	Anthelmintics
		<i>Lucilia serricata/L.cuprina</i>	Dermatitis	Anthelmintics
<b>Metabolic</b>	Facial eczema	sporidesmin from <i>Pithomyces chartarum</i>	Blistering of the skin	None

\*: zoonotic agent

(\*): no described transmission to human but tight relationship with Bovine Spongiform Encephalopathy



# **1. PARTIE 1. La résistance aux maladies est un phénomène complexe : comment phénotypiquement évaluer ce caractère?**

Si les moutons sont capables d'éliminer rapidement et efficacement les pathogènes, ils ne seront pas infectés et ne seront donc pas affectés par la maladie. Il apparaît donc clair que la sélection d'animaux résistants passe par l'optimisation des mécanismes immuns en jeu. Il est donc nécessaire de mesurer ces mécanismes par l'intermédiaire de paramètres directs et indirects de manière à pouvoir classer les individus en terme de résistance. Cette première partie revient brièvement sur les bases de la réponse immunitaire et questionne la façon de mesurer la résistance.

## **1-1 – L'immunité et ses mécanismes complexes (Maillard 2001; Moreno 2003; Euzéby 2004; Delverdier 2006)**

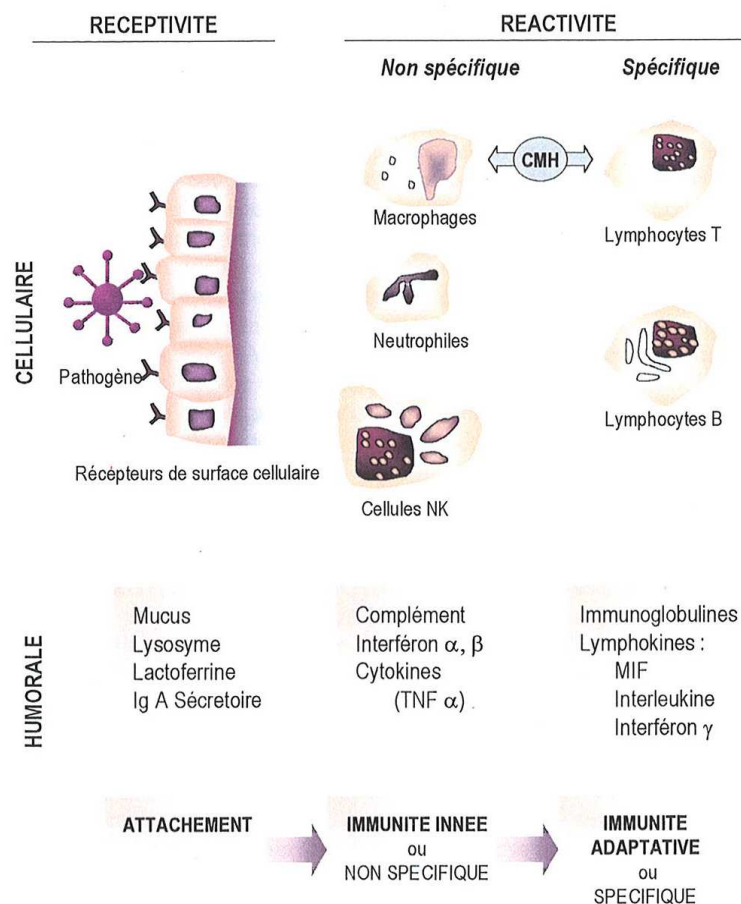
Tout contact avec un micro-organisme (antigène) est suivi d'une réponse immunitaire (figure 1) impliquant deux types de réponse, spécifique ou non. Ces réponses consistent en des interactions complexes entre différents types cellulaires et des médiateurs moléculaires (cytokines). Chaque réponse spécifique emprunte un chemin propre en fonction du type de pathogène considéré (bactérie, virus ou parasite).

### **1-1-1 – Une immunité innée unique et non-spécifique**

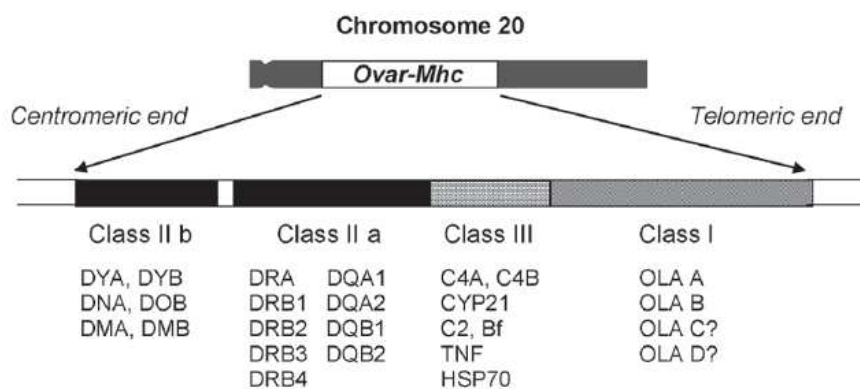
Différents mécanismes sont toujours prêts à être mis en œuvre face à tout pathogène sans qu'aucun contact préalable avec celui-ci ne soit requis. Cette immunité "innée" est donc non-spécifique puisqu'elle ne fait pas appel à la reconnaissance spécifique d'antigène. Les mécanismes mis en jeu sont donc les mêmes quelque soit l'antigène et ce système de défense ne gardera pas l'antigène en mémoire.

Cette réponse innée peut être subdivisée en des mécanismes actifs et passifs (figure 1). Les barrières passives comprennent les barrières physiques comme la peau, les excréments et sécrétions liquidiennes (urine, larmes) ou les contractions intestinales, mais également d'agents biochimiques qui inhibent le développement des pathogènes (tableau 2).

Ces barrières passives peuvent parfois s'avérer insuffisantes, laissant le champ libre à des pathogènes bientôt confrontés à un deuxième rideau défensif actif. En effet la présence de pathogènes en profondeur stimule les mastocytes et plusieurs systèmes protéiques aboutissant à la mise en place d'une réponse inflammatoire.



**Figure 1.** Mécanismes de l'immunité (Maillard 2001)



**Figure 2.** Schéma de la structure du CMH ovine, ses classes et les loci connus correspondants (Dukkipati *et al.* 2006)

Cette inflammation facilite la diffusion locale d'agents biochimiques envisagés précédemment, et le recrutement de macrophages qui phagocytent (endocytose suivie de la dégranulation de substances oxydatives) le pathogène, ou le détruisent par l'intermédiaire de facteurs cytotoxiques comme les cellules Natural Killers. Il est important de noter que le gène *SLC11A1*, localisé sur le chromosome 2 (Pitel *et al.* 1995) joue un rôle majeur dans l'activation des macrophages. Il a d'ailleurs été associé à la résistance aux pathogènes intracellulaires (Blackwell *et al.* 2001).

### 1-1-2 Une immunité acquise spécifique de chaque pathogène

Ce second type d'immunité est basé sur la reconnaissance d'antigènes du « non-soi » durant le processus de présentation d'antigènes. Cette présentation d'antigènes est une interaction entre les trois effecteurs majeurs de la réponse spécifique: les lymphocytes T (devenus mûres dans le thymus), les lymphocytes B (devenus mûres dans la moelle osseuse) et les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) comme les cellules dendritiques ou les macrophages. Grâce aux immunoglobulines (Ig) situées à leur surface, les lymphocytes B peuvent reconnaître directement l'antigène brut. Au contraire, les lymphocytes T, exprimant des récepteurs spécifiques (TcR), ne reconnaissent que les antigènes présentés par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) des CPA, chaque molécule du CMH étant spécifique d'un antigène donné. Le CMH ovin, désigné par *Ovar-mhc*, se trouve sur le chromosome 20 et se compose de trois classes de gènes extrêmement polymorphiques (figure 2). Les gènes des classes I et II codent pour les immunoglobulines impliquées dans la présentation d'antigènes. Les gènes de classe III sont partiellement associés à l'immunobiologie puisqu'ils codent pour des facteurs du complément ou le Tumor Necrosis Factor (Dukkipati *et al.* 2006).

Durant la phase innée de la réponse immunitaire, les antigènes vont être pris en charge et présentés par les macrophages et présentés aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup> (aussi appelés lymphocytes T helper) dans la rate ou les nœuds lymphatiques. Cette présentation conduit à la spécialisation de ces lymphocytes T CD4<sup>+</sup> en Th1 ou Th2 selon le type de pathogène.

La réponse Th1 est caractérisée par la production d'interféron  $\gamma$ , et aboutit à une immunité à médiation cellulaire: activation des macrophages, activation des lymphocytes CD8<sup>+</sup> (lymphocytes T cytotoxiques) et production d'Ig opsonisants par les lymphocytes B. Cette opsonisation facilitera par la suite la phagocytose des pathogènes. Cette réponse sera la plus appropriée contre des pathogènes intracellulaires (virus ou bactéries intracellulaires comme celles du genre *Chlamydia*).

Au contraire, la sécrétion d'interleukine 2 (IL-2) est le facteur clé pour induire une réponse Th2, aboutissant à l'activation des lymphocytes B. Ces lymphocytes produisent alors des Ig neutralisants et signent ainsi une réponse humorale, étant la plus appropriée contre des pathogènes extracellulaires, des toxines ou des parasites.

La plupart des lymphocytes B et T meurent à la fin de la réponse immunitaire mais une poignée d'entre eux survivent et assurent une « mémoire » contre les antigènes déjà rencontrés. Ils assurent ainsi une réponse plus rapide et plus intense en cas de ré-exposition au même antigène.

## **1-2 – Comment mesurer la résistance?**

Après avoir évoqué la complexité des mécanismes immuns dans la partie précédente, nous discutons dans cette partie les méthodes envisageables pour déterminer expérimentalement quels moutons sont les plus résistants.

### **1-2.1 Y'a-t-il un critère idéal pour mesurer la résistance génétique ?**

L'étude de la résistance génétique est basée sur la mesure de paramètres pathophysiologiques pertinents. Les meilleurs critères doivent être discriminants entre les animaux sains et infectés et doivent présenter une variation génétique pour être utilisés en sélection. Idéalement ces caractères sont faciles à mesurer et peu coûteux (Rupp 2002).

Les symptômes cliniques et les lésions d'autopsie peuvent servir au classement des animaux en termes de résistance. Cependant ces paramètres sont rarement pathognomoniques d'une maladie et sont fortement liés aux connaissances et à l'expérience du clinicien. Il est par exemple impossible de différencier une infection de tremblante ou d'ESB chez le mouton d'un point de vue clinique. Par ailleurs les moutons tolérants ne montreront pas de signes cliniques, ce qui les classera dans la catégorie résistants bien qu'étant infectés.

De nombreux paramètres de laboratoire ont donc été développés comme indicateurs indirects du niveau de résistance. Ces paramètres sont en général fortement corrélés avec la présence ou l'absence de pathogène. Cependant il faut rester prudent quant à l'interprétation des résultats, étant donné que la biologie peut varier entre espèces de pathogènes. C'est le cas notamment entre le genre *Nematodirus* et les autres strongles pour le comptage d'œufs de parasite excrétés dans les faeces de mouton (EPG) : les œufs de *Nematodirus* sont produits en moins grande quantité et de façon moins régulière (McKenna 1981). De plus les valeurs situées autour des valeurs seuil sont toujours difficiles à interpréter, comme dans le cas des mammites sub-cliniques et du seuil pour les comptages cellulaires (CCS) dans le lait

(Bergonier *et al.* 2003). Les mesures répétées fournissent par ailleurs des données plus fiables que des mesures ponctuelles (Tilquin 2003). Concernant l'analyse des données, le modèle gaussien est en général utilisable pour l'analyse des données, mais les caractères binaires ou les modèles non paramétriques, comme le modèle de survie, ne sont pas rares et peuvent être délicats à mettre en œuvre (Tilquin 2003).

#### 1-2.2 Mise au point de protocole (Moreno 2003; Beraldi *et al.* 2008)

Les protocoles d'étude de la résistance génétique requièrent une population expérimentale présentant des variations à la fois génétique et phénotypique. Par ailleurs il ne faut pas oublier que la résistance est un caractère qui évolue au cours du temps (Vu Tien Khang *et al.* 1997) puisqu'à la fois la réponse immune de l'hôte et la virulence du pathogène évoluent au cours du cycle d'infection ou d'infestation (tableau 2).

**Tableau 2.** Evolution de la résistance/susceptibilité en fonction du stade (Vu Tien Khang *et al.* 1997)

Stade pathogénique	Réponse d'un animal résistant	Réponse d'un animal susceptible
Exposition	Pas d'infection	Contamination
Début de l'infection	Infection locale	Multiplication et dissémination
Infection systémique	Guérison	Infection chronique
Conséquences cliniques	Aucune	Signes cliniques
Terminaison	Vivant	Mort

L'avantage majeur du recours à une infection naturelle est le nombre conséquent de données obtenues, comme c'est le cas dans le suivi des mammites. La plupart du temps il est cependant impossible de caractériser précisément l'infection ayant lieu (durée d'exposition et dose infectante inconnues). Par ailleurs les maladies peu fréquentes sont également difficilement observables dans ce genre d'expérience.

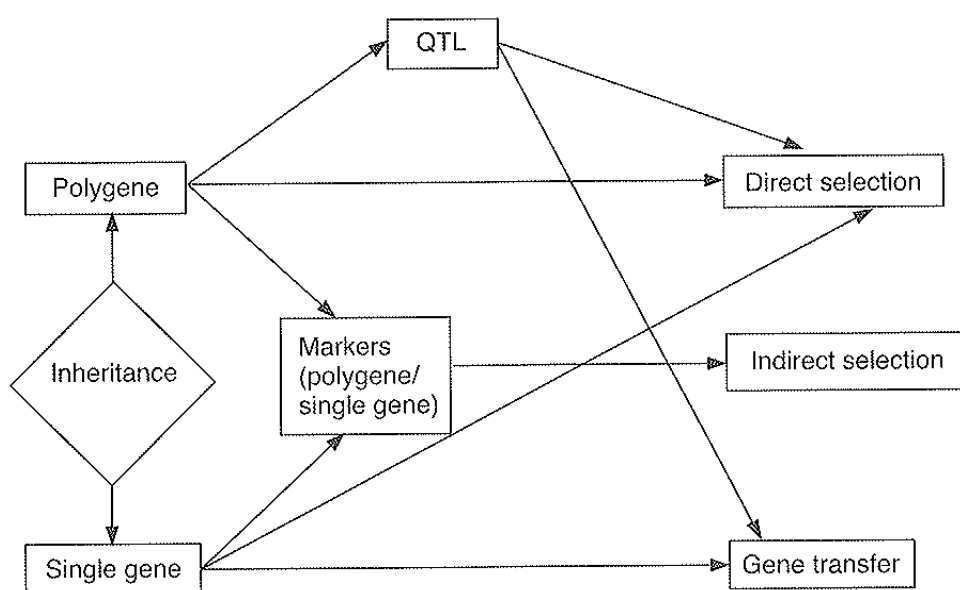
On lui préfère donc le plus souvent l'infection expérimentale qui pallie à ces problèmes puisqu'il est possible d'en contrôler les paramètres. Toutefois, même s'il est possible de mesurer des caractères plus élaborés cette méthode reste imparfaite. Premièrement ce genre de protocole reste coûteux notamment si l'on utilise des animaux de grand format comme les moutons. Deuxièmement, pour des raisons sanitaires il peut être impossible de mettre en place ce genre de protocole, auquel cas on pourra avoir recours à des souches atténuées de pathogènes ou seulement à des antigènes spécifiques. Troisièmement on peut se

demander si le caractère mesuré est le même que celui observé dans les conditions naturelles et doit à ce titre faire l'objet de validations préalables.

## 2. Partie 2. Les différentes approches d'étude de la résistance génétique: revue des connaissances

L'étude de la résistance génétique aux maladies fait appel à diverses approches qui envisagent chaque niveau de déterminisme, c'est-à-dire polygénique, multigénique avec les QTL ou monogénique dans le cas des gènes majeurs (figure 3).

Cette deuxième partie passe en revue les connaissances accumulées dans chaque cas et illustre le propos par deux études pratiques. La première étude d'estimation de paramètres génétiques pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux du mouton illustrera le déterminisme polygénique de la résistance aux parasites. L'approche multigénique sera quant à elle envisagée au travers d'une étude visant à détecter des QTL pour la résistance à une salmonelle. De manière à intégrer au mieux ces deux travaux dans cet ouvrage, seuls les aspects principaux de ces deux études seront ici développés.



**Figure 3.** Les différentes approches dans la sélection d'animaux résistants (Axford 2000)

### 2.1. La résistance génétique est un caractère polygénique (Axford 2000; Bishop & Morris 2007)

Un des arguments proposé contre la sélection pour la résistance aux maladies est déduite de la proposition de Fisher selon laquelle tout allèle favorable à la survie d'un hôte est fixé par sélection naturelle (Fisher 1930) cité par Stear et al., 2001), signifiant ainsi que les variations

observées ne sont pas explicables par la génétique. L'héritabilité serait donc nulle et aucune sélection ne serait par ailleurs envisageable.

Cependant la résistance aux maladies a fait l'objet de nombreuses études intra-race, notamment chez le mouton. Les résultats obtenus suggèrent une héritabilité moyenne des caractères de résistance d'environ 0.30 (tableau 3, le cas particulier de la tremblante sera discuté ultérieurement). En ce qui concerne la résistance aux nématodes du mouton, il a été montré que l'héritabilité des caractères de résistance était aux alentours de zéro chez des agneaux de 1 à 2 mois, puis augmentait jusqu'à 0,33 à six mois (Stear *et al.* 1999b). Les auteurs en ont donc conclu que la variation génétique de la résistance aux nématodes était liée à un phénomène évolutif et acquis : la réponse immune. Cependant il faut également garder à l'esprit que le système immunitaire de l'agneau n'est opérationnel qu'à trois mois. C'est pourquoi les études sont généralement menées après cet âge. Il est également intéressant de noter que les corrélations génétiques entre des infestations successives à *H. contortus* à 3 et 6 mois sont estimées aux alentours de 1, suggérant que les gènes impliqués dans la résistance sont les mêmes (Gruner *et al.* 2004). On peut ainsi penser que la réponse immune fait intervenir les mêmes facteurs en primo-infestation et lors d'une infestation répétée, et ne s'adapte donc pas. Cependant Lacroux *et al.* (Lacroux *et al.* 2006) ont démontré que ce vers induit une réponse de type Th2, c'est-à-dire une réponse acquise. Des études supplémentaires, mesurant le niveau d'expression des gènes notamment (voir 2.3), seraient donc nécessaires pour élucider les phénomènes en jeu. Un premier aspect mécanistique peut être dégagé de l'héritabilité de la longueur des vers en tant qu'indicateur de leur fécondité estimée à 0,62. La résistance des agneaux est donc liée à leur aptitude à maintenir un taux de reproduction faible chez les vers et non pas à limiter leur nombre (Lacroux *et al.* 2006). Cette dernière conclusion élimine donc la façon de pâturer en tant que composant majeur de la résistance génétique (Stear *et al.* 1999a).

Par ailleurs la santé de la mamelle est également sous contrôle polygénique avec des valeurs d'héritabilité comprises entre 0,10 et 0,18 (Rupp & Boichard 2003) pour la moyenne des CCS. De plus Barillet *et al.* (2001) ont estimé des valeurs d'héritabilités de CCS ponctuels entre 0,04 et 0,12. En dehors des pays scandinaves et pour les bovins, les mammites cliniques sont peu utilisées jusqu'à présent comme indicateur. En effet leur prévalence est généralement basse, moins de 5% par an (Barillet *et al.* 2001) tout comme l'héritabilité, estimée à 0,04 (Mrode 1996).



Aux résultats obtenus pour ces deux pathologies majeures du mouton, d'intéressants résultats suggèrent que la résistance à l'infection Visna-Maedi serait un caractère héritable, sans pour autant que des estimations aient été conduites (Axford 2000; Berriatua *et al.* 2003).

En outre les différences observées entre races dans leurs réponses aux pathogènes, comme le modèle Romane sensible vs. Black Belly résistant à *Haemonchus contortus*, et l'association de régions génétiques à la susceptibilité à des maladies (voir plus bas) sont des preuves de variabilité.

Plusieurs explications ont été proposées par Stear *et al.* (2001) pour éclairer la contradiction entre la théorie de Fisher et les observations de terrain. Premièrement, Fisher considérait une situation en équilibre qui n'est pas forcément de mise pour les maladies puisque les moutons peuvent être exposés à des environnements nouveaux et donc, à de nouveaux pathogènes. De plus, les maladies conduisent à une hétérogénéité environnementale qui favorise les génotypes résistants à des moments ponctuels (épidémies) ou dans certaines régions localisées, ce qui se traduit en moyenne par une pression de sélection faible. On peut légitimement penser que cette faible pression de sélection est également maintenue grâce à l'utilisation de traitements pharmaceutiques. Par ailleurs si le génotype résistant est peu fréquent, une épidémie sélectionnera ce génotype qui deviendra alors prépondérant aboutissant ainsi à une diminution de la prévalence de la maladie. La pression de sélection s'en trouvera alors diminuée et pourrait éventuellement devenir nulle peu de temps avant la fixation de l'allèle résistant. Cette sélection fréquence-dépendante peut également intervenir dans le cas de coévolution entre l'hôte et son pathogène. Enfin il est possible que les gènes de susceptibilité continuent de ségréger parce qu'ils sont liés à des caractères de production intéressants ou en association avec des gènes de résistance à d'autres maladies.

**Tableau 3.** Héritabilités estimées pour la résistance aux maladies majeures du mouton

DISEASE	PATHOGEN	TRAIT	H <sup>2</sup>	REFERENCE
<b>Ectoparasites and cutaneous myasis</b>	<i>Bovicola ovis</i>	Louse score	0.44	(Pfeffer <i>et al.</i> 2007)
		Cockle score	0.40	(Pfeffer <i>et al.</i> 2007)
		Louse Ag level	0.24	(Pfeffer <i>et al.</i> 2007)
	<i>Fleece rot</i>	Resistance	0.13 - 0.41	(Norris <i>et al.</i> 2008)
		Severity	0 - 52	(Norris <i>et al.</i> 2008)
	<i>Dermatophilosis</i>	Resistance	0.14	(Norris <i>et al.</i> 2008)
		Severity	0.25 - 0.42	(Norris <i>et al.</i> 2008)
	<i>Blow fly strike</i>	Resistance	0.26	(Bishop & Morris 2007)
		Severity	0.3-0.4	(AXFORD 2000)
<b>Gastrointestinal infestation</b>	<i>Strongyles</i>	FEC	0.22 - 0.43	(AXFORD 2000)
		Worm length	0.53	(DAVIES 2005)
		Worm burden	0.13	(DAVIES 2005)
		No. of eggs in utero	0.5	(DAVIES 2005)
		No. of adult females	0.08	(DAVIES 2005)
		No. of adult males	0.12	(DAVIES 2005)
		No. of L4 larvae	0.06	(DAVIES 2005)
		No. of L5 larvae	0.12	(DAVIES 2005)
		Total no. of worms	0.12	(DAVIES 2005)
		IgA activity	0.46 - 0.67	(DAVIES 2005)
		Fructosamine conc.	0.05 - 0.39	(DAVIES 2005)
		Eosinophil count	0.57 - 0.74	(DAVIES 2005)
		Pepsinogen activity	0.56	(DAVIES 2005)
	<i>T. colubriformis</i>	FEC	0.11 - 0.47	(Gruner <i>et al.</i> 2004)
		Ab conc.	0,05 - 0,29	(SHAW 1999)
		IgG1 conc.	0,23 - 0,42	(SHAW 1999)
		IgE conc.	0,36 - 0,52	(SHAW 1999)
	<i>Nematodirus</i>	FEC	0,25 - 0,54	(Bishop & Morris 2007)
	<i>H. contortus</i>	PCV	0.12 - 0.2	(Miller & Horohov 2006)
		FEC	0.27 - 0.34	(AXFORD 2000)
	<i>O. circumcincta</i>	FEC	0.14	(BISHOP 1996)
<b>Maedi-Visna</b>		No available estimate		
<b>Facial eczema</b>		Liver injury	0.42	(Bishop & Morris 2007)
		gGT activity in serum	0.45	(Bishop & Morris 2007)
<b>Ovine footrot</b>		8 clinical signs	0,07 - 0,22	(AXFORD 2000)
		Ab response	0,24 - 0,58	(Bishop & Morris 2007)
<b>Mastitis</b>		Lactation mean SCC	0.15	(Barillet <i>et al.</i> 2001)

Ag: antigen, FEC: Faecal Egg Count, No.: number Ab: Antibody, conc.: concentration; IgG1: Immunoglobulin G1, IgE: Immunoglobulin E, PCV: Packed-Cell Volume, g-GT: Gamma-Glutamyltransferase, SCC: Somatic Cell Count

## 2.2. Cartographie des gènes de résistance sur le génome ovin: utilisation de marqueurs et approche QTL

De nombreux gènes ayant un effet majeur sur des caractères de production ou de santé ont été mis en évidence les dernières années. La détection de ces QTL est basée sur la liaison existante entre les allèles d'un marqueur polymorphe et les allèles au(x) QTL lié(s) (Falconer & Mackay 1996). Cette analyse de liaison repose sur des croisements entre individus hétérozygotes aux deux loci et les recombinaisons méiotiques associées. On peut ainsi tracer les segments chromosomiques et déterminer les éventuelles liaisons entre un marqueur et un QTL (Altshuler *et al.* 2008).

Etant donné la complexité de cette approche, il est nécessaire d'en optimiser certains facteurs (Tilquin 2003). La précision et la pertinence des mesures phénotypiques ont déjà été discutées précédemment et l'on n'entrera pas dans le détail à propos des outils statistiques. Il est par ailleurs nécessaire d'avoir suffisamment de marqueurs génétiques de manière à obtenir la position la plus précise du QTL. Chez le mouton, la carte génétique la plus récente comprend 1374 marqueurs représentant 1333 loci. La plupart des régions génomiques sont bien couvertes comme en atteste la taille maximale de 20 cM pour les portions laissées vacantes (Maddox & Cockett 2007; van der Werf 2007). De plus l'utilisation de single-nucleotide polymorphisms (SNP) connaît un développement important avec une puce SNP 60K mise en service par le International Sheep Genomics Consortium ([http://www.sheephapmap.org/isgc\\_genseq.htm](http://www.sheephapmap.org/isgc_genseq.htm)), qui surpasse déjà la puce 20K évoquée comme projet en 2007 (Maddox & Cockett 2007). Une telle puce devrait permettre d'augmenter la puissance des tests et ainsi conduire à des résultats intéressants dans les mois à venir. Par ailleurs il est important d'avoir le plus grand nombre possible de marqueurs informatifs, c'est-à-dire hétérozygotes. Par ailleurs, le type d'expérimentation, menée dans des populations outbred ou inbred par exemple, est également à considérer. Le dernier paramètre, mais non le moindre, est l'effectif de la population expérimentale, qui peut s'avérer problématique dans le cas de gros animaux tel que les moutons. Pour minimiser les coûts expérimentaux, la solution peut être de réaliser une première expérimentation sur des souris et de raffiner ensuite les régions chromosomiques trouvées en utilisant le principe de la cartographie comparative et les régions orthologues (Lantier 2002). Bien que cette approche ait permis de démontrer le rôle de *SLC11A1* dans la résistance à *Salmonella* chez la souris et la poule, ce résultat n'a pas pu être confirmé chez le mouton (tableau 4) (Moreno 2003). De plus cette méthode est basée sur l'hypothèse très forte que le déterminisme génétique de la résistance est le même entre espèces.

A l'heure actuelle, la plupart des protocoles de détection de QTL pour la résistance aux maladies chez le mouton sont menés avec en général 150 marqueurs microsatellites. Raadsma et Fullard (2006) ont rapporté 6 études de détection de QTL pour la résistance aux strongles chez le mouton et au moins 5 autres études non publiées, tandis que la base de données « sheep QTL database » (Hu 2007) liste 23 QTL. Dans leur revue bibliographique, Bishop & Morris (2007) rapportent également cet effort de recherche sur ce thème en listant les QTL trouvés sur les chromosomes 2, 3, 6, 14, 19 et 20 (tableau 5). Il est d'ailleurs quelque peu surprenant qu'autant de régions chromosomiques aient été identifiées pour un unique type de résistance. Cependant la réponse immunitaire en jeu est complexe et les études menées ont été différentes en termes d'espèces de parasites considérées et de races d'hôtes infestés. De plus, l'approche analytique est également un facteur de variation entre ces études : la plupart des études s'attachent à quelques chromosomes tandis que d'autres ont conduit une recherche sur le génome complet (Beh *et al.* 2002). Par ailleurs, le point commun à tous ces résultats reste la région de l'interféron gamma située sur le chromosome 3 (Dominik 2005; Bishop & Morris 2007).

**Tableau 4.** QTLs détectés pour la résistance aux maladies chez le mouton (sauf infestation par les strongles et mammites)

Disease	Trait	OAR	Significancy	Reference
<b>Facial eczema</b>	log GGT	3	Significant	(Phua <i>et al.</i> 2008)
	log GGT	15	Suggestive	(Phua <i>et al.</i> 2008)
	log GDH	1, 8, 13	Suggestive	(Phua <i>et al.</i> 2008)
<b>Salmonellosis</b>	log IgG1, log-Var-IgG1	20	Significant	(MORENO 2003)
	IgM0	9	Suggestive	(MORENO 2003)
	IgM7	2	Suggestive	(MORENO 2003)
	log BgGG	21	Significant	(MORENO 2003)
	log PdsGD	15	Suggestive	(MORENO 2003)
	log PdsrR	4	Significant	(MORENO 2003)
	log PdsrR	11, 13	Suggestive	(MORENO 2003)
	log Var Pds	18	Suggestive	(MORENO 2003)
<b>Oestrosis</b>	Anti- <i>O. ovis</i> IgG	17, 21	Highly significant	(BARILLET 2006)
<b>Cutaneous myiasis</b>				
<i>Lucilia cuprina</i>	larval growth	11	Suggestive	(SMITH 2008)
	larval survival	18	Suggestive	(SMITH 2008)

GGT = gamma-glutamyltransferase concentration, GDH = gamma-deshydrogenase concentration, BgGG = number of bacteria /gramm in left lymphatic node, PdsGD = left lymphatic node weight, PdsrR = corrected spleen weight, Var Pds = weight differential between vaccination and slaughtering

**Tableau 5.** Répartition chromosomique des QTL détectés pour la résistance aux nématodes chez le mouton (Raadsma & Fullard 2006)

Chromosome	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
Trait																													
GIN (FEC 1)																													
GIN (FEC 1)																													
GIN (IgA 1)																													
s GIN (FEC 1)																													
h GIN (FEC 2)																													
e GIN (FEC 2)																													
e GIN (FEC 2)																													
p GIN (FEC 2)																													
GIN (IgA 2)																													
GIN (FEC 2)																													
GIN (Adult 2)																													

Dark grey= significant or suggestive, Light grey = non-significant, White = unexamined or non-defined, FEC = Faecal Egg count, Adult = adult worms

La résistance aux mammites est également un problème sanitaire majeur en production laitière ovine comme le montre la mise en place du projet européen « Genesheep safety » (Barillet 2006). Ce projet a conduit à la détection de 7 QTL pour les CCS dans trois populations (tableau 6). Ces QTL se trouvent à différents endroits en fonction des études : le plus significatif a été détecté sur OAR14, tandis que 2 QTL sur OAR6 et OAR20 ont été trouvés dans les populations Sarda x Lacaune et Churra.

**Tableau 6.** Chromosomes où des QTL significatifs ont été identifiés pour les CCS dans différentes populations ovines européennes (Barillet 2006)

Sarda x Lacaune	Churra	Lacaune x Manech
2		
4		
6		
12		
13		
		14
		16
17		
18		
19		
	20	

La résistance à la tremblante sera abordée dans le paragraphe suivant spécialement dédié à la résistance au prion. D'autres résultats innovants proposent de nouvelles perspectives dans la détection de QTL de résistance à d'autres maladies (tableau 4). En effet un QTL a été identifié sur OAR3 pour la résistance à l'eczéma facial (Phua *et al.* 2008). Par ailleurs d'autres résultats encourageant ont été obtenus mais ont toujours besoin d'être confirmés. Premièrement, une association entre la résistance au piétain et des marqueurs du CMH a été montrée (Escayg *et al.* 1997). Deuxièmement une étude sur la résistance à la croissance de *Lucilia cuprina*, agent de myase, a détecté un QTL potentiel sur le chromosome 11 pour la croissance larvaire et sur le chromosome 18 pour la survie des larves (Smith 2008). Ces QTL doivent cependant être confirmés par d'autres expérimentations avec plus de marqueurs et d'animaux. Troisièmement, pour la première fois, 2 QTLs (sur OAR17 et OAR21) ont été trouvés pour la résistance à *Oestrus ovis* (Barillet 2006).

### 2.3. L'approche gène candidat et mesure d'expression génique pour identifier les gènes de résistance

La résolution de cette première étape de détection n'est pas assez précise. Les intervalles de confiance des QTL sont généralement autour d'une dizaine de centimorgans, ce qui correspond à une centaine de gènes candidats (de Koning *et al.* 2005). Il est possible d'augmenter le nombre de marqueurs dans les régions détectées afin de localiser plus finement ces QTL. Cependant l'intervalle de confiance devenant de plus en plus petit, aucune recombinaison n'est observée si l'on n'augmente pas le nombre d'individus. Cet inconvénient propre à l'analyse de liaison peut être surmonté par d'autres approches.

#### 2.3.1. *Etudes d'association*

Au lieu de s'intéresser aux événements de recombinaison ayant eu lieu dans la seule population étudiée (l'ensemble des familles à disposition), on peut avoir recours à une analyse de déséquilibre de liaison, qui considère l'historique des recombinaisons dans la population globale (la race ou la lignée considérée). En effet il n'est pas absurde de faire l'hypothèse pour une race ou une lignée, que des individus soient porteurs de régions chromosomiques identiques, toutes transmises par un ancêtre commun,  $n$  générations auparavant. La recherche de ces régions identiques par descendance chez des animaux ayant un phénotype associé à la mutation au QTL, en l'occurrence résistant ou sensible, permet de restreindre la région où rechercher le QTL. Puisqu'à chaque transmission de l'allèle des recombinaisons ont lieu, plus le nombre de générations est important, plus la région identique entre les individus sera restreinte et la localisation du QTL affinée (Bidanel 2008; Goddard & Hayes 2009).

La combinaison des approches d'analyse de liaison et de déséquilibre de liaison peut augmenter la précision de la détection de QTL mais reste insuffisante pour identifier la mutation causale. Cette stratégie ne donne habituellement pas d'intervalles inférieurs à 0,5 cM, c'est-à-dire 10 à 50 gènes (Raadsma & Fullard 2006). Le séquençage de régions candidates de cette taille pour un grand échantillon d'animaux résistants et sensibles s'avère un processus long et coûteux constituant une contrepartie majeure.

Une autre approche est de se concentrer sur les gènes candidats d'un point de vue fonctionnel. Même si cette approche peut être plus rapide il est cependant possible de se concentrer sur le mauvais gène. Il est légitime de penser que les gènes impliqués dans la réponse immunitaire sont fort probablement impliqués dans la résistance aux maladies (Lantier 2002). Ces gènes peuvent être séparés en trois catégories : les gènes contrôlant

l'immunité innée, les autres contrôlant la spécificité de la réponse immune et enfin les gènes affectant la qualité de la réponse (Axford 2000).

Comme évoqué précédemment, *SLC11A1* joue un rôle important dans l'activation des macrophages et a donc un impact majeur sur la réponse immunitaire innée. Ce gène a été associé à la résistance à la salmonellose chez la poule et la souris mais ce résultat n'a pu être démontré chez le mouton (Wigley 2004).

La spécificité de la réponse acquise est sous le contrôle du CMH et de nombreuses études menées chez le porc, le poulet, les bovins et les chevaux ont démontré l'association entre cette région génétique et la résistance à certaines maladies. Cependant le CMH est peu caractérisé chez le mouton (Dukkipati *et al.* 2006). Mais OAR20 et la région du CMH chez le mouton sont associés de façon récurrente à la résistance aux nématodes. Janßen *et al.* (2002) ont trouvé des associations entre des indicateurs d'haemonchose (FEC, PCV, concentration en Ig anti-larves) et trois marqueurs d'OAR20, *DYA* (classe IIb, figure 2) étant un possible candidat. De plus le locus *DRB1* appartenant à la classe IIa du CMH (figure 2) a été associé à la résistance à *O. circumcincta*, résultats qui n'ont pu être redémontrés dans une autre étude bien que *DRY* était significatif (Schwaiger *et al.* 1995; Buitkamp *et al.* 1996; Dominik 2005). Cependant les résultats obtenus par Stear *et al.* (2006) sont en accord avec une association entre la résistance à *O. circumcincta* et *DRB1*, les moutons homozygotes ayant des FEC plus importants que les hétérozygotes. Cette tendance entre individus homo- et hétérozygotes est également en accord avec les conclusions de Paterson (1998) dont l'étude de terrain chez un troupeau sauvage Soay indique que le CMH confère soit une augmentation soit une diminution de la résistance des jeunes aux strongles. Bien que les gènes du CMH semblent fortement associés à la résistance aux nématodes, aucune association suffisante avec le piétain, ou bien entre *DRB1* et l'infection Visna-Maedi n'a pu être mise en évidence pour pouvoir l'appliquer sur le terrain (Axford 2000; Herrmann-Hoesing 2008).

Les résultats des protocoles de détection de QTL pour la résistance aux mammites n'ont pas permis de dégager de régions consensus et aucun gène candidat n'a pu être mis en évidence chez le mouton (Barillet 2006). Cependant les études chez la vache laitière montrent que les allèles du CMH de classe I semblent être impliqués dans la résistance aux mammites alors que les résultats divergent pour les gènes du CMH de classe II. Des résultats récents, mettant en évidence un QTL pour les CCS sur OAR20 pourraient éventuellement aboutir à la mise en évidence du rôle du CMH dans la susceptibilité aux mammites chez le mouton laitier (Gutiérrez-Gil *et al.* 2007).



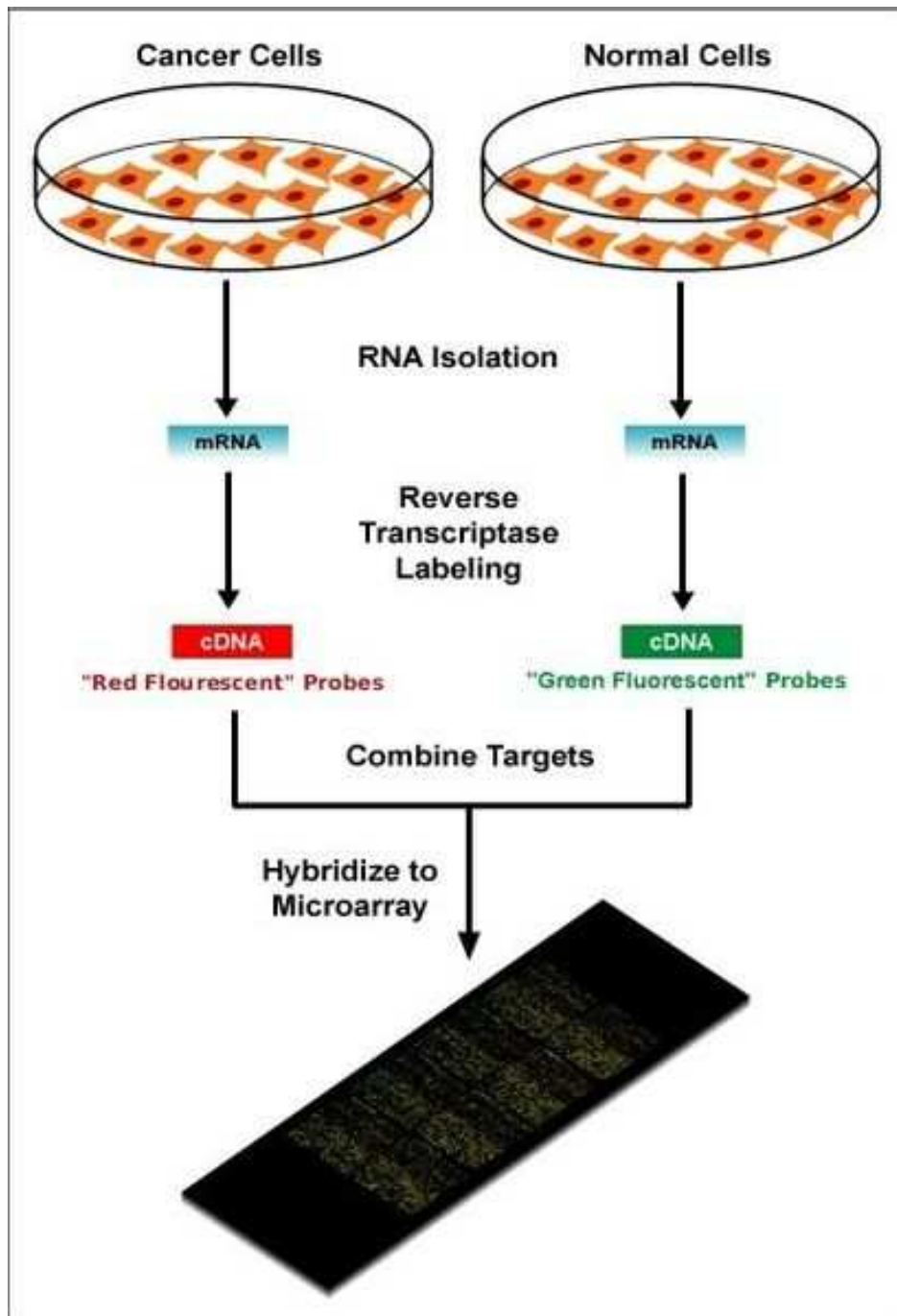
Enfin on peut également envisager les gènes codant pour les cytokines impliquées dans la coordination de la réponse immunitaire. L'interféron  $\gamma$  est une de ces molécules et a été associé à la résistance au parasitisme. OAR3 est le QTL le plus fréquemment rencontré lors d'étude de résistance aux nématodes et les régions détectées comprennent, entre autres, celles du locus de l'interféron  $\gamma$  (Dominik 2005). De plus Sayers et al. (2005) ont mis à jour une association entre ce gène et les FEC pour la race Texel mais pas dans la race suffolk, alors que le contraire avait été trouvé en considérant l'association avec *DRBI*. Les interleukines, notamment spécifiques des réponses de type Th2 impliquées dans l'immunité anti-parasitaire sont d'autres cytokines clés.

Les interleukines notamment celles impliquées dans la réponse de type Th2 et la réponse immunitaire contre les strongles sont d'autres éléments clés. Il a été montré que trois marqueurs d'OAR5 étaient en association avec des FEC (Benavides *et al.* 2002). Un de ces marqueurs, CSRD2138, était constant entre les troupeaux étudiés et proche des gènes de l'IL-3, IL-4 et IL-5.

En ce qui concerne les maladies métaboliques comme l'eczéma facial, d'autres gènes candidats en relation avec le métabolisme des xénobiotiques ont été considérés. Par exemple Duncan et al. (Duncan *et al.* 2007) ont mis en évidence l'association entre la susceptibilité à l'eczéma facial et un gène connu pour coder un transporteur de toxine chez les bovins, comme il a été fait pour le gène de la *catalase* (Phua *et al.* 1999).

### 2.3.2. *Génomique fonctionnelle* (Cummings 2000; Lantier 2002)

De la RT-PCR quantitative qui permet d'étudier quelques gènes au Massively Parallel Signature Sequencing (MPSS) ou la Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) avec laquelle il devient possible d'étudier tous les ARN présents dans une cellule, les méthodes d'étude d'expression rendent la détection de gènes candidats positionnels et fonctionnels plus facile. La technique de microarray est une méthode intermédiaire. Elle est basée sur l'hybridation fortement spécifique et sensible d'acides nucléiques marqués avec des séquences complémentaires liées à une lame de verre (figure 4). Cela donne une représentation graphique de l'expression des gènes en réponse à l'infection par un pathogène. De plus la séquence temporelle d'évènements transcriptionnels peut être suivie ce qui permet de déterminer l'ordre de la cascade expressionnelle induite par le pathogène comme l'ont fait Galindo et al. (2009) en prélevant des béliers à 0, 7, 15 et 60 jours post-infection par *Brucella ovis*.



**Figure 4.** Technique microarray appliquée à l'étude de cellules cancéreuses (<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Microarray-schema.jpg>)

Cependant il est impossible de détecter un quelconque évènement post-transcriptionnel. De plus l'interprétation des résultats doit être précautionneuse. En effet les faux positifs sont fréquents étant donné le nombre important de données à analyser, ce qui rend la validation par d'autres méthodes, telle que la real-time RT-PCR, indispensable. De plus il peut être difficile d'éliminer les réponses expressionnelles dues à un stimulus incontrôlé dans le cadre d'une étude de terrain, ou bien de distinguer entre plusieurs types cellulaires d'un même tissu. Ce problème peut être contourné par l'utilisation de lignées cellulaires qui sont le plus à même d'être en contact avec le pathogène, mais cette démarche simplifie énormément la complexité du système étudié. Enfin, la résistance peut être due à des différences structurelles des protéines et non pas à une différence quantitative (Bishop 2002b). Chez le mouton, les études microarray ont majoritairement été menées pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux. Par cette technique, Diez-Tascon et al. (2005) ont mis en évidence une expression plus élevée des gènes du CMH de classe II chez les moutons résistants. Ils ont également montré la stimulation d'un récepteur de chémokines connu pour faciliter la présentation d'antigènes par les molécules du CMH de classe II et une augmentation des produits de gènes liés à la structure et la fonction des muscles lisses de l'intestin. Ces résultats suggèrent que l'adaptation des agneaux résistants repose sur la capacité à éliminer physiquement et activement les vers de l'intestin. Ces résultats sont en accord avec ceux de Keane et al. (2007) qui ont en plus observé une augmentation de l'expression des radicaux libres et une augmentation d'un facteur 8,4 de l'expression de *DQAI*. De plus Keane et al. (2006) avait auparavant détecté que les gènes de réponse au stress étaient plus fortement exprimés chez les agneaux sensibles avant infestation, suggérant que ces agneaux pourraient avoir un niveau d'expression inapproprié qui perturberait la réponse immune innée. Ces études apportent ainsi des précisions sur les mécanismes de résistance et renforcent également le rôle du CMH dans la résistance aux nématodes. Cependant entreprendre des manipulations de type microarray sans avoir auparavant amassé des données d'analyse QTL conduira à l'obtention d'un nombre faramineux de gènes différentiellement exprimés ce qui reflètera le déterminisme polygénique de la résistance aux maladies, sans pour autant apporter une information pertinente applicable à un schéma de sélection.

Plutôt que mener à la fois une détection de QTL et des études d'expression en parallèle, Jansen&Nap (2001) proposent de détecter des QTL d'expression, appelés e-QTL en combinant des analyses de liaison à l'échelle du génome avec des études d'expression. Cette approche permet une vue plus globale des réseaux de gènes impliqués dans la résistance aux maladies. Cependant, en plus d'obtenir un nombre important de faux positifs, le manque de

puissance des protocoles eQTL constitue un problème majeur. De plus ces expérimentations requièrent des centaines de prélèvements et sont donc extrêmement coûteuses (de Koning *et al.* 2005).

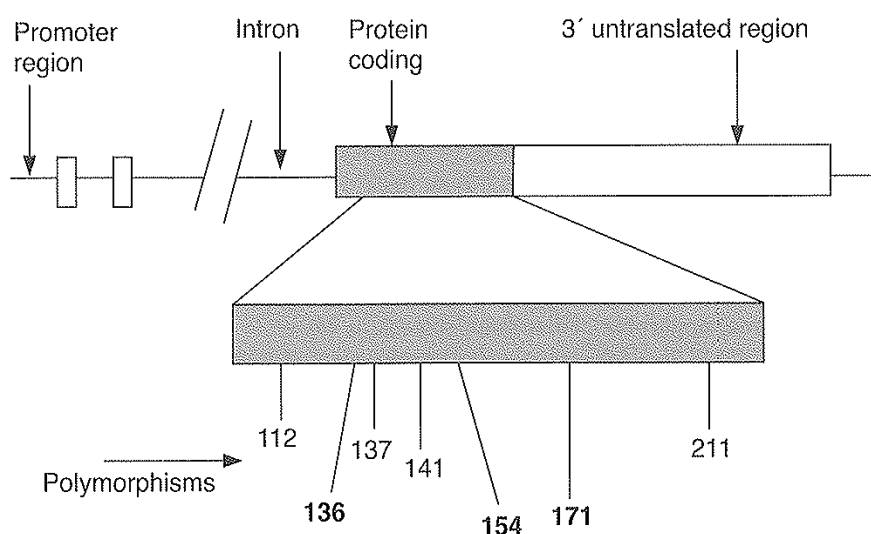
#### 2.4. Le gène *Prp*, un gène majeur dans la susceptibilité à la tremblante (Hunter 2007)

La tremblante est une encéphalopathie spongiforme subaigüe transmissible (ESST) causée par l'accumulation de protéine prion (PrP<sup>sc</sup>) dans le système nerveux central, comme l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) liée à la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme (tableau 7). Cette maladie est connue en Europe depuis plus de 250 ans et l'influence des lignées familiales ou des races ont été très tôt décrites. En utilisant des lignées résistantes ou sensibles à la tremblante, il est clairement apparu qu'un gène, *Sip* (*Scrapie incubation period*) ou *Sinc* (*'Scrapie incubation'*) chez le mouton et la souris, contrôlait le temps d'incubation de la tremblante. Il a été démontré plus tard par hybridation avec des oligonucléotides mis au point par traduction reverse de la séquence de la protéine PrP, que ce gène codait pour la protéine PrP, d'où le nom du gène *PrP* (Oesch 1985; Lantier 2002).

Ce gène a par la suite été cartographié sur OAR13 (Prusiner *et al.* 1998; Goldmann 2008). Par ailleurs le recours à la transgénèse et la création de souris knock-out *Prnp*<sup>0/0</sup> ayant une séquence du gène PrP interrompue, a confirmé le rôle de ce gène dans le codage de la protéine prion. Le potentiel des méthodes de transgénèse pour l'étude de la résistance à la tremblante (et à d'autres maladies) a par ailleurs été illustré par les études sur les barrières d'espèces (difficulté avec laquelle le prion peut contaminer une espèce à partir d'une autre) et sur la pathogenèse (Axford 2000). Un des exemples de ces expérimentations est l'étude menée par Malluci *et al.* (2003) dans laquelle des souris NFH-Cre/MloxP doublement transgéniques (qui expriment la protéine PrP jusqu'à la déplétion de la PrP<sup>c</sup> neuronale médiée par la Cre recombinase) ont été utilisées. Après contamination par la tremblante et l'examen neuropathologique longitudinal de ces souris, ils ont mis en évidence une réversion de la dégénération nerveuse précoce induite par la PrP<sup>sc</sup> ainsi qu'une protection à long terme contre la déposition de protéine prion. Ces résultats suggèrent ainsi la possibilité d'une intervention thérapeutique qui pourrait prévenir la progression fatale de la maladie.

Chez le mouton, les polymorphismes de la séquence du gène PrP sont nombreux, et les premières variations établies aux codons 136, 154, and 171 (figure 5) déterminent la part la plus importante de la susceptibilité à la tremblante (Goldmann 2008). Ces polymorphismes peuvent être combinés pour former 5 allèles pouvant s'arranger en 15 génotypes différents (tableau 8). Ces allèles sont les plus souvent rencontrés et ont été utilisés pour mettre au point

5 groupes de risque dans le cadre des programmes d'éradication (tableau 8). De façon intéressante, on ne sait toujours pas expliquer pourquoi le génotype ARQ/ARQ est le plus souvent associé à la susceptibilité chez les suffolks mais est régulièrement associé à des Cheviots résistants (Axford 2000). De plus, les mécanismes de résistance face à ce pathogène unique restent un mystère : est-ce que les génotypes codent pour la résistance ou bien ont-ils simplement une influence sur le temps d'incubation ? La question n'a toujours pas trouvé de réponse (Bishop & Morris 2007).



**Figure 5.** Structure du gène *Prp* ovine (Axford 2000)

Une autre question troublante à propos de cet agent pathogène non conventionnel est la mise en évidence d'une forme de tremblante atypique, suffisamment distincte (tableau 7) pour être notée Nor68. En effet Moum et al. (2005) ont démontré que la phenylalanine (F) du codon 141 est associée avec la souche Nor98. Par ailleurs, contrairement à ce qui a été trouvé pour la tremblante classique, l'allèle VRQ semble conférer une résistance à la souche atypique, alors que les génotypes ARR/ARR et ARR/AHQ ont été trouvés sensibles (Benestad *et al.* 2003; Hunter 2007; Benestad *et al.* 2008). D'un point de vue épidémiologique, il reste à déterminer si cette souche est vraiment nouvelle ou si c'est une découverte due à la surveillance accrue mise en place en Europe. Même si le gène *PrP* a un impact majeur sur la sensibilité à la tremblante, de la variation génétique a été mise en évidence en dehors de ce locus (Diaz *et al.* 2005). De plus, Moreno (2003) a trouvé deux QTL : l'un sur OAR18 ayant une similitude avec l'étude menée par Lloyd chez la souris, et l'autre sur OAR6 (Moreno *et al.* 2008).

**Tableau 7.** Caractérisation des ESST chez les petits ruminants (Benestad *et al.* 2008)

TSE type	“Stringent” Western blot	“Mild- proteinase K” Western blot	Immunohistochemistry and histopathology	Comments
Classical scrapie	Three band pattern above 15 kDa.	Three band pattern above 15 kDa.	Grey matter vacuolation immuno-labelling in the medulla involving the DMNV.	Susceptible genotypes 2– 5 years old.
BSE in small ruminants	Three band pattern. Dominance of the di-glycosylated band. No or weak staining with mAb raised against the N-terminus. Unglycosylated band lower than in classical scrapie.		Grey matter vacuolation immuno-labelling in the medulla involving the DMNV.	
Atypical/Nor98	Negative or showing a Western blot profile distinct from other TSE.	Multiple band pattern with a lower band at below 15 kDa.	No involvement of the DMNV <sup>1</sup> . Immunostaining often present in the nucleus of the spinal tract of the trigeminal nerve. Immunostaining generally more intense in the cerebellar and cerebral cortices.	Commonly older sheep (4 years and more). Genotypes associated with resistance to classical scrapie. Preferences for the AHQ, AF <sub>141</sub> RQ, and ARR alleles. Most often single cases per flock.

DMNV: dorsal motor nucleus of the vagus.

**Tableau 8.** Plan national de lutte contre la tremblante au Royaume-Uni (Hunter 2007)

PrP genotype	NSP <sup>a</sup> type	Degree of resistance
ARR/ARR	1	Sheep that are most resistant to scrapie
ARR/AHQ	2	Sheep genetically resistant to scrapie but need careful selection when used for breeding
ARR/ARH		
ARR/ARQ		
ARQ/ARQ	3	Sheep genetically have little resistance to scrapie and need careful selection when used for breeding
AHQ/ARH		
AHQ/ARQ		
ARH/ARH		
ARH/ARQ		
ARQ/ARQ		
ARR/VRQ	4	Sheep genetically susceptible to scrapie and should not be used for breeding unless in the context of a controlled and approved breeding programme
VRQ/AHQ	5	Sheep that are highly susceptible to scrapie and should not be used for breeding
VRQ/ARH		
ARQ/ARQ		
VRQ/VRQ		

a : National Scrapie Plan

Tous ces résultats concernant le gène PrP ne sont pas seulement intéressants par rapport à la tremblante mais permettent également une compréhension globale des maladies induites par PrP<sup>sc</sup>. En effet des relations ont été trouvées entre les génotypes *PrP* chez le mouton et la sensibilité à l'ESB (Houston *et al.* 2003). Ce locus explique également une partie des différences de résistance à l'ESB observées chez les bovins, même si les génotypes ne sont pas directement transposables (Axford 2000).

### 3. Partie 3. Illustrations pratiques : estimation de paramètres génétiques et détection de QTL pour la résistance aux maladies chez le mouton

#### 3.1. Estimation de paramètres génétiques pour la résistance à l'infestation par des strongles gastro-intestinaux dans des troupeaux commerciaux Texel, Suffolk et Scottish Blackface au Royaume-Uni

##### 3.1.1. Introduction

Afin d'illustrer le propos sur le déterminisme polygénique de la résistance aux maladies, nous présentons ici les résultats obtenus suite à l'estimation de paramètres génétiques pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux du mouton.

Les strongles gastro-intestinaux (SGI) sont un problème majeur pour les filières ovine, bovine et caprine. Peu importe la pâture, les parasites sont présents et les herbivores se contaminent. Les infestations à *H. contortus* sont légions dans les pays tropicaux mais également en régions tempérées comme la France, le Royaume-Uni ou la Nouvelle-Zélande. Ces régions tempérées font également face à d'autres genres de vers, comme par exemple *T. circumcincta* qui est un parasite majeur au Royaume-Uni. Ce parasitisme induit des pertes économiques considérables en termes de traitement vétérinaire et de perte de production. En 1995, McLeod estimait le coût induit par les trois nématodes majeurs (*H. contortus*, *Ostertagia spp.*, *Trichostrongylus spp.*) pour la filière ovine australienne à 222 millions de dollars par an (McLeod 1995). Plus récemment Nieuwhof et Bishop (2005) ont estimé le coût annuel des SGI à 84 millions de livres sterling.

Par ailleurs les capacités d'adaptation et de survie des SGI ne s'illustrent pas seulement par leur aptitude à coloniser différents milieux mais également dans les résistances qu'ils développent face aux traitements chimiques. En effet des résistances ont été rapportées pour toutes les classes d'anthelminthiques, pour des parasites bovins, ovins ou caprins. De plus les études montrent qu'aucun continent n'est épargné par ce phénomène (tableau 9), conduisant dans certaines régions de l'hémisphère sud à une disparition de l'élevage (Waller 1997). En outre l'utilisation massive des anthelminthiques comme elle a été menée jusqu'alors n'est plus d'actualité. Les effets délétères qu'elle engendre sur l'écosystème prairial (Lumaret & Errouissi, 2002) et la limitation des traitements dans une agriculture biologique plébiscitée par la société



(Cabaret *et al.* 2002) tendent à rationaliser l'usage des anthelminthiques et à favoriser d'autres moyens de contrôle des SGI.

**Tableau 9.** Prévalence de la résistance d'*Haemonchus* contre divers anthelminthiques en Afrique du Sud et Amérique du sud ( Jackson & Coop 2000)

Country	Farm	Percentage of resistant farms for given anthelmintics					
		Bz	Iv	Lev	Bz+Lev	Rfx	Clos
S.Africa	80	79	73	23	-	89	-
Paraguay	37	70	67	47	-	-	-
Uruguay	242	61	1	29	-	-	-
Brazil	182	68	7	19	15	-	20
Argentina	65	37	2	8	5	-	-

Key : BZ, benzimidazoles; Iv, Ivermectin; Lev, Levamisole; Rfx, rafoxanide; Clos, Closantel.

Alors que des alternatives comme l'utilisation de vaccins ou de champignons prédateurs nécessitent encore quelques développements (Jackson & Miller 2006), la sélection d'animaux résistants aux SGI s'avère être un moyen de lutte efficace et durable. Cette résistance, caractérisée par l'aptitude de l'hôte à réprimer le développement du parasite et à ne pas exprimer de signes cliniques, s'observe à l'échelle des populations avec des races ovines plus résistantes que d'autres. C'est le cas par exemple des Martinik Black Belly, résistants et adaptés au milieu difficile qu'offre les Antilles, qui contrastent avec la race composite Romane développée en milieu européen pour ses aptitudes bouchères. La différence de susceptibilité entre ces deux races a été clairement démontrée (Aumont *et al.* 2003), ainsi que la corrélation favorable existant entre la résistance à des espèces de parasites différentes (Gruner *et al.* 2004). De plus la variabilité génétique estimée intra-race est suffisamment importante pour envisager la sélection d'animaux résistants (Bishop & Morris, 2007). Par ailleurs, l'utilisation de ces deux races a permis d'établir un modèle de résistance comparée soulignant la complexité des processus immunitaires et physiologiques en jeu (Terefe *et al.* 2007).

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'étude basée sur des données d'infestation fournie par la Meat and Livestock Commission (MLC) britannique afin d'estimer des paramètres génétiques pour des caractères de résistance aux strongles.

*T. circumcincta* est le strongle le plus fréquemment rencontré lors d'infestation au Royaume-uni, tandis que *Nematodirus spp.* provoque des lésions gastro-intestinales sévères chez l'agneau durant le printemps, et parfois à l'automne (Winter 2002). De plus, peu d'articles s'intéressent à l'héritabilité de la résistance à *Nematodirus spp.* ou à des corrélations avec les caractères de production (épaisseur de muscle, couverture grasseuse, poids vif). L'étude présentée estime des paramètres génétiques pour des FEC de strongles et de *Nematodirus spp.* dans les faeces de moutons infestés, ainsi que les corrélations entre ce caractère de résistance et les performances citées auparavant. Les données ont été récoltées dans trois races britanniques (Scottish Blackface, Suffolk et Texel) participant à des programmes de suivi de performance et de sélection.

### 3.1.2. Matériels et méthodes

#### 3.1.2.1. Animaux et protocole expérimental

Les données parasitologiques ont été collectées par la MLC à partir de troupeaux du Royaume-Uni entre 2001 et 2006. Trois races ont été étudiées. La race Scottish blackface (SBF), la plus présente au Royaume-Uni, est une race utilisée de manière extensive sur les pâturages difficiles des highlands. Les deux autres races, Texel (TEX) et Suffolk (SUF) sont moins rustiques que SBF mais ont de meilleures aptitudes bouchères. Chaque troupeau était composé d'une seule race et la conduite du troupeau a été supposée identique pour tous les animaux d'un même troupeau. Dans certains troupeaux où des lots avaient été faits par l'éleveur, chaque lot a été considéré comme un troupeau séparé.

Selon un protocole fourni aux éleveurs, les agneaux étaient vermifugés à 16 semaines ou au moins 4 semaines avant le jour de mesure de performances. La collecte de faeces a été réalisée autour de 20 semaines d'âge et coïncidait avec les mesures d'épaisseur musculaire, d'épaisseur de gras dorsal et du poids vif. Les éleveurs ont collecté eux-mêmes les échantillons et les ont envoyés à Innovis® ([www.innovis.org.uk](http://www.innovis.org.uk)), où les FEC ont été déterminés selon la technique de McMaster (Whitlock 1948).

A partir de 2002, les comptages d'oeufs ont été réalisés séparément pour *Nematodirus spp.* étant donné que la biologie de ce parasite diffère de

celle des autres strongles. C'est pourquoi les données de 2001 n'ont pas été considérées. De plus, les œufs des genres de strongles les plus prévalents au Royaume-Uni, *Teladorsagia*, *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Cooperia*, *Chabertia* et *Oesophagostomum* (Bartley *et al.* 2003; Bishop 2004) ne peuvent pas être distingués facilement et ont donc été regroupés et considérés comme « Strongles ».

### 3.1.2.2. Analyses statistiques

#### 3.1.2.2.1. Caractères mesurés

Six caractères ont été pris en compte. Etant donné la différence de biologie évoquée précédemment, les FEC ont été considérés séparément pour les strongles et *Nematodirus spp.* : epgS représentent les comptages d'œufs de strongles et epgN, les comptages pour *Nematodirus spp.* A ces deux caractères s'ajoutent les performances mesurées : le poids vif (SWT), l'épaisseur de muscle (MD) et l'épaisseur de gras dorsal (FD).

En plus de ces 5 caractères continus (epgS, epgN, SWT, MD and FD), un autre a été créé pour les FEC de *Nematodirus*. Premièrement, la biologie de ce vers est particulière puisque les stades larvaires sont plus pathogéniques que les adultes, faisant ainsi du FEC un indicateur très indirect de la pathogénicité (McKenna 1981). Deuxièmement, comme rapporté au tableau 11, les oeufs de *Nematodirus spp.* étaient rares avec au moins 60% de valeurs à zéro, rendant délicat toute analyse statistique nécessaire à la détermination de la valeur génétique des agneaux. C'est pourquoi un caractère binaire, appelé « N » (voir section 2.1.2.2.2.3) a été considéré : la valeur 0 était assignée quand aucun oeuf n'était détecté et la valeur 1 s'appliquait aux individus ayant excrété au moins un oeuf.

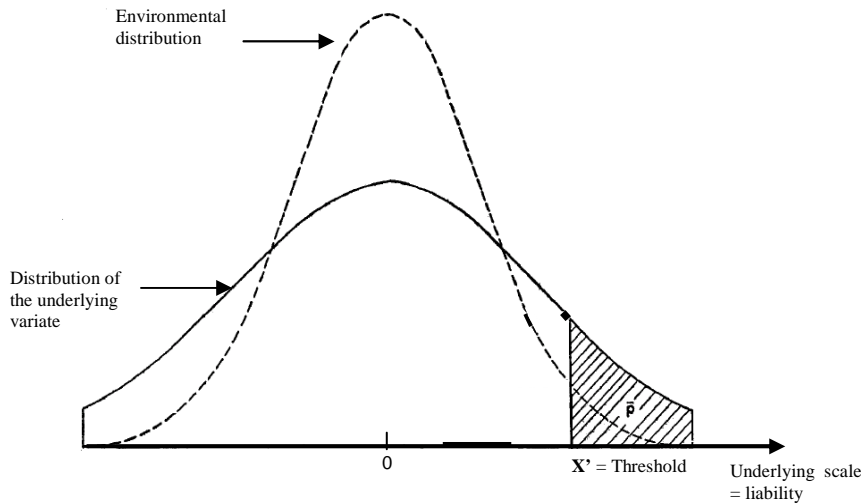
#### 3.1.2.2.2. Analyse préliminaire des caractères continus

Afin d'estimer les moyennes, les écart-types et les variances de chaque caractère, des analyses préliminaires pour chaque caractère ont été réalisées en utilisant la procédure univariate de SAS<sup>®</sup> 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA). De la même façon le jeu de données a également été testé pour la normalité en se basant sur la déviation graphique des données et la valeur du test de Shapiro-Wilk. Il est à noter que pour les données TEX, la valeur du test de

Kolmogorov-Smirnov a été utilisée comme indicateur de la normalité puisque SAS ne peut pas estimer la valeur du test de Shapiro-Wilk pour plus de 2000 données. A la suite de ces analyses, une fonction logarithmique a été appliqué aux FEC afin de corriger les écarts à la normalité selon la formule:  $\ln fS/\ln fN = \ln(epgS/epgN+15)$  pour les données de 2006 et  $\ln fS/\ln fN = \ln(epgS/epgN+25)$  pour les autres années. Pour les performances mesurées, seule FD a du être transformée par une fonction racine, SWT et MD ayant des valeurs de test de Shapiro-Wilk comprises entre 0,97 et 0,99 alors que 1 correspond à la normale.

#### 3.1.2.2.3. Statistique des données à seuil pour *Nematodirus spp.*

Initialement proposé par Wright (Wright 1934), le concept de caractère à seuil s'applique à des caractères observés comme catégoriels mais supposés continus sur une échelle sous-jacente. Ce concept a aussi été défini par Falconer (1965) comme étant la « liabilité » (Figure 6). Dans le cas précis, N est un caractère catégoriel prenant deux valeurs observables : 0 quand le comptage est nul, 1 sinon. Ces deux catégories observables sont supposées être le résultat d'une distribution continue et sous-jacente de l'infestation par *Nematodirus spp.*, cette infestation n'étant observable qu'à partir d'un certain seuil (Lynch & Walsh, 1998). Ainsi l'héritabilité estimée pour ce caractère sera un paramètre génétique de la probabilité d'apparition de l'infestation par *Nematodirus spp.*



**Figure 6.** Illustration du modèle postulé (Dempster & Lerner 1950)

La ligne continue représente la distribution sous-jacente des individus dans la population. La ligne pointillée représente la distribution des individus ayant une valeur génotypique moyenne de 0, ce qui signifie que cette courbe est la distribution environnementale de variance  $(1 - h^2)$ , où  $h^2$  est l'héritabilité de la variable sous-jacente.  $X^*$  est la valeur seuil au-delà de laquelle le caractère est exprimé, et la partie à droite de ce seuil représente la prévalence du caractère.

#### 3.1.2.2.4. Modèle linéaire pour les FEC et les performances mesurées

La procédure GLM (SAS) a été réalisée pour déterminer les effets fixes à prendre en compte pour corriger ces données non-équilibrées. Tous les caractères ont été corrigés pour les effets environnementaux communément rencontrés selon un modèle linéaire : troupeau, année de naissance, sexe, type de naissance (nombre d'agneaux nés/allaités), âge de la mère et les interactions entre ces effets. Seuls les effets significatifs ont été conservés selon leurs significativités statistique et biologique.

Les mêmes effets fixes ont été testés pour le caractère binaire N à l'aide des procédures Logistic et Probit de SAS<sup>®</sup> 9.1. Le modèle logistique linéaire est de la forme ( $\mathbf{x}$  étant un vecteur colonne de variables explicatives et  $\pi$  la distribution de probabilité à être modélisée :

$$\text{logit}(\pi(\mathbf{x})) = \log(\pi(\mathbf{x})/(1-\pi(\mathbf{x}))) = \alpha + \mathbf{x}\beta$$

où  $\alpha$  est l'intercept et  $\beta$  le vecteur des paramètres de la courbe.

La procédure probit estime les paramètres  $\beta$  et  $C$  de l'équation probit. Pour une variable réponse  $Y$  binaire l'équation probit s'écrit :

$$P = Pr(Y = 0) = C + (1 - C) F(x'\beta)$$

avec  $\beta$  un vecteur d'estimation de paramètres,  $F$  une fonction de distribution cumulative,  $x$  un vecteur de variable explicatives,  $p$  la probabilité de réponse et  $C$  le taux de réponse naturel (SAS documentation, 2007). Cette équation est également connue sous la forme:

$$Pr(y=1|x) = \Phi(xb)$$

où  $\Phi$  représente la distribution de probabilité de la loi normale et  $xb$  est le score probit ou index.

### 3.1.2.3. Estimation des paramètres génétiques

Après avoir corrigé les six caractères pour les effets environnementaux, les paramètres génétiques ont été estimés par maximisation de la vraisemblance résiduelle (REML) en appliquant un modèle animal et en utilisant le logiciel AsReml (Gilmour *et al.* 2006). Les fichiers de pedigree ont été mis à disposition par la MLC, incluant tous les animaux avec des performances et cinq générations d'ancêtres. La structure des données pour les FEC n'a pas permis d'appliquer un modèle avec l'effet maternel environnemental permanent ou l'effet portée comme effets aléatoires. Cependant, ces effets étaient quelquefois significatifs pour les caractères de production (tableau 10). Le choix de considérer ou non un effet aléatoire a été basé sur la comparaison des valeurs de vraisemblance du modèle simple et de celles du modèle avec effets aléatoires additionnels. Le double de la différence des rapports de vraisemblance suit un chi-square à 1 degré de liberté avec un risque de  $\alpha=5\%$ . Cette valeur doit excéder 3,84 pour être significative.

Lorsque l'on considère un caractère binaire, l'estimation de l'héritabilité basée sur un modèle linéaire mixte généralisé, c'est-à-dire un modèle avec une fonction de transformation normalisant les résidus, est plus juste avec un modèle père qu'avec un modèle animal (Gilmour *et al.* 2006). C'est pourquoi l'estimation a été menée en prenant le père des agneaux comme effet aléatoire en appliquant les fonctions probit et logistique dans Asreml.

Après cela, les corrélations génétiques ont été estimées en utilisant une analyse bivariée dans Asreml et en corrigeant pour les mêmes effets fixes environnementaux que ceux utilisés en analyse univariée et le seul effet génétique direct comme effet aléatoire. Par ailleurs il est impossible de réaliser une analyse multivariée avec un modèle à seuil dans Asreml. Les corrélations du caractère N ont donc été estimées en considérant ce caractère comme continu mais en utilisant les composantes de la variance estimées avec le modèle à seuil de l'analyse univariée. Cette méthode donne une approximation suffisante pour ces corrélations (Eady *et al.* 2007).

**Tableau 10.** Effets aléatoires considérés pour chaque caractère dans chaque race

Caractère	RACE		
	SBF	SUF	TEX
LnfS	Animal	Animal	Animal
LnfN	Animal	Animal	Animal
N	Animal/père	Animal/père	Animal/père
SWT	Animal + mère_PE	Animal + portée	Animal + mère_PE+ portée
MD	Animal	Animal + portée	Animal + portée
FD	Animal	Animal + portée	Animal + portée

#### 3.1.2.4. Résultats

##### 3.1.2.4.1. Statistiques de base à propos des données

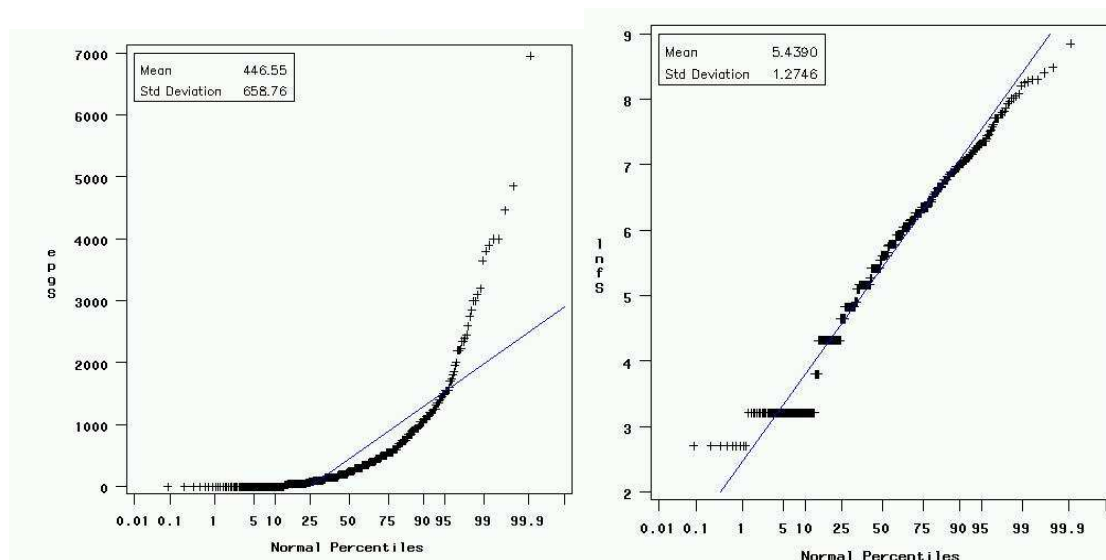
Deux fois plus de données étaient à disposition pour TEX, avec 2153 enregistrements, donnant ainsi plus de puissance aux analyses menées. Par rapport aux moyennes estimées de FEC, les moutons SBF ont excrété le plus d'oeufs dans leurs faeces avec 549 oeufs par gramme au total (tableau 11), suivis par TEX et SUF. Comme dans d'autres études (Bishop 1996; Davies 2005) les FEC présentaient une déviation à la normalité et une courbe de distribution déviée à droite étant donné le nombre important de valeurs nulles observées (figure 7, tableau 11 ). La transformation logarithmique appliquée a permis de pallier ce résultat comme le montre la figure 7. Etant donné que certains troupeaux avaient beaucoup plus de valeurs à zéro que les autres, l'hypothèse a été faite que les agneaux avaient été traités par des anthelminthiques longue-action, ou bien que les pâtures étaient trop peu

contaminées pour assurer une infestation suffisante. C'est pourquoi les combinaisons troupeau/année ayant une variance nulle pour les FEC n'ont pas été considérées dans les analyses.

**Tableau 11.** Statistiques de base des données phénotypiques et généalogiques

SBF	
Nombre d'observations	962
avant correction des données	
Observations utilisées	733
dans l'analyse	
Pourcentage de FEC nuls	25% / 75%
(Strongyles/ <i>Nematodirus spp.</i> )	
Animaux présents dans le pedigree	8595
SUF	
Nombre d'observations	1520
avant correction des données	
Observations utilisées	935
dans l'analyse	
Pourcentage de FEC nuls	19% / 58%
(Strongyles/ <i>Nematodirus spp.</i> )	
Animaux présents dans le pedigree	11851
TEX	
Nombre d'observations	3483
avant correction des données	2153
Pourcentage de FEC nuls	21% / 66%
(Strongyles/ <i>Nematodirus spp.</i> )	
Animaux présents dans le pedigree	17043





**Figure 7.** Graphiques représentant la déviation à la normalité des FEC de strongles avant (graphique de gauche) et après transformation logarithmique (graphique de droite)

Les analyses génétiques préliminaires des données pré-corrigées pour SBF ont abouti à des valeurs d'héritabilités bien plus basses qu'attendues, proches de zéro. Il a donc été supposé que les corrections apportées pour éliminer les données non informatives n'avaient pas été assez stringentes. Il a alors été décidé arbitrairement de ne garder que les troupeaux ayant moins de 30% de valeurs à zéro pour les FEC de strongles. Cette procédure n'a pas été appliquée au comptage pour *Nematodirus spp.* étant donné son statut de faible producteur d'œufs qui le place comme un indicateur peu fiable de l'usage potentiel d'un anthelminthique longue-action. Par ailleurs, pour un même troupeau, les FEC de *Nematodirus spp.* étaient nuls quand ils avaient été trouvés nuls pour les FEC de strongles. Cependant même après correction, chaque race présentait au moins 60% de valeurs à zéro pour les FEC de *Nematodirus spp.* : approximativement 4 fois moins d'œufs ont été comptés pour ce vers dans les races SBF et SUF, tandis que la race TEX présentait presque 9 fois moins d'œufs de *Nematodirus spp.* que d'autres espèces (tableau 12).

Il est intéressant de noter que la correction des données basée sur la règle empirique de la variance phénotypique des FEC égale à 1 citée par Miller a conduit aux mêmes estimations des paramètres génétiques (Miller *et al.* 2006). Ces résultats n'ont cependant pas été pris en compte. En effet ce critère utilisé initialement pour les données SBF apparut plus empirique et moins rigoureux dans son utilisation. Cependant la méthode décrite dans cette étude aboutit à des variances phénotypiques aux alentours de 1,0 pour les FEC (tableau 12), confirmant une fois de plus cette règle empirique. En plus des autres critères, les troupeaux représentant

moins de 1% des données totales d'une race ont été supprimés de l'analyse puisqu'ils augmentent le nombre de degrés de liberté sans apporter d'information significative aux analyses statistiques.

Une sélection des données intra-père a également été menée pour estimer l'héritabilité du caractère binaire. En effet ce genre de caractère admet une distribution normale sous-jacente au sein de chaque race. Cependant il est apparu que certains pères n'avaient de l'information que pour un seul niveau de N dans leur descendance, signe de l'absence de variation et de l'impossibilité d'estimer un seuil. Ces pères ont donc également été supprimés de l'analyse pour l'estimation de l'héritabilité de N.

**Tableau 12.** Statistiques de base pour les FEC de strongles et de *Nematodirus spp.* (avant et après transformation logarithmique) pour chaque race

	SCOTTISH BLACK FACE	
	Strongles	Nematodirus
<i>Données originales</i>		
Moyenne (oeufs/g de faeces)	447	102
Variance	434000	36600
Ecart-type	659	191
Assymétrie	3.9	3.0
Valeur maximale	6950	1560
<i>Après transformation</i>		
Moyenne	5.4	4.1
Variance	1.6	1.3

**Tableau 12.** Suite et fin

SUFFOLK		
	Strongles	Nematodirus
<i>Données originales</i>		
Moyenne (oeufs/g de faeces)	289	64.9
Variance	276000	19100
Ecart-type	138	525
Assymétrie	5.0	4.1
Valeur maximale	6700	1400
<i>Après transformation</i>		
Moyenne	4.9	3.9
Variance	1.6	0.98
TEXEL		
	Strongles	Nematodirus
<i>Données originales</i>		
Moyenne (oeufs/g de faeces)	358	42
Variance	369000	9475
Ecart-type	607	97
Assymétrie	3.8	4.3
Valeur maximale	6700	1050
<i>Après transformation</i>		
Mean	5.1	3.6
Variance	1.8	0.74

**Tableau 13.** Résumé des statistiques de base des caractères de production dans chaque race

SCOTTISH BLACK FACE			SUFFOLK		
	Moyenne	Ecart-type		Moyenne	Ecart-type
SWT (kg)	33.0	5.75	SWT (kg)	59.8	11.2
MD	22.1	3.29	MD	31.9	3.59
√ (FD)	1.43	0.326	√ (FD)	2.03	0.475

TEXEL		
	Moyenne	Ecart-type
SWT (kg)	42.8	8.37
MD	28.6	3.86
√ (FD)	1.56	0.360

Les différentes moyennes trouvées pour les caractères de production (tableau 13) soulignent bien les différences zootechniques évoquées auparavant: les SBF présentent un SWT aux alentours de 30 kg tandis que TEX et SUF ont des valeurs entre 40 et 60kg respectivement. Les valeurs de MD confirment également cette différence, puisque SBF présentait en moyenne 10 mm d'épaisseur de muscle en moins par rapport aux deux autres races.

#### 3.1.2.4.2. Héritabilités estimées pour les FEC et les caractères de production

Les valeurs des héritabilités estimées sont synthétisées dans les tableaux 14 et 15. L'héritabilité de  $\ln fS$  a été estimée à 0,14 (s.e.=0,09) pour SBF alors qu'elles ont été trouvées plus importantes pour SUF et TEX, races pour lesquelles elles étaient de 0,40 (s.e.=0,10) et 0,45 (s.e.=0,05). Au contraire l'héritabilité de  $\ln fN$  a été trouvée dans des valeurs proches de 0,30, plus constantes entre les races. Les estimations trouvées pour le caractère binaire N étaient différentes selon la méthode de régression utilisée, probit ou logistitc, et selon la race considérée. En effet la régression probit semble être la plus appropriée aux données disponibles avec des valeurs estimées aux alentours de 0,30 situées dans le même intervalle que les estimations de la régression linéaire. L'utilisation de la régression logistitc a, quant à elle, donné des valeurs

très élevées, parfois supérieures à 1,0 (c'est-à-dire en dehors de l'espace des paramètres). De plus ces valeurs avaient des intervalles de confiance trop important pour pouvoir être interprétable.

**Tableau 14.** Héritabilités estimées pour les FEC et erreurs standards (entre parenthèses)

(Légende: lnFS= transformation logarithmique des FEC de strongles ; lnFN= transformation logarithmique des FEC de *Nématodirus spp.* )

	SBF	SUF	TEX
lnFS	0.14 (0.09)	0.40 (0.10)	0.45 (0.05)
lnFN	0.33 (0.09)	0.31 (0.10)	0.27 (0.05)

**Tableau 15.** Héritabilités estimées pour le caractère binaire dans chaque race N

(Légende: Nl = N avec un modèle logistic; Np= N avec un modèle probit)

	SBF	SUF	TEX
Nl	0.79 (0.39)	0.81 (0.42)	1.2 (0.25)
Np	0.32 (0.19)	0.31 (0.19)	0.54 (0.14)

Concernant les caractères de production mesurés dans cette étude, les héritabilités ont été estimées à des valeurs moyennes, comprises entre 0,20 et 0,40 (tableau 16). Les héritabilités les plus fortes ont été estimées pour SBF alors que les valeurs les moins élevées ont été trouvées pour SUF aux alentours de 0,20. L'effet portée a été trouvé significatif pour chacun des trois caractères de production dans les races SUF et TEX, mais seulement pour le caractère SWT dans les troupeaux SBF. L'effet d'environnement permanent dû à la mère (environnement utérin ou production laitière) n'a été trouvé significatif que dans deux cas seulement.

**Tableau 16.** Héritabilités et estimations des autres effets aléatoires pour les caractères de production (les erreurs standards sont données entre parenthèses)

(Légende: SWT=poids vif; MD=épaisseur de muscle; FD=épaisseur du gras dorsal;  $h^2$ =héritabilité; Portée=effet de la portée; PE=effet d'environnement permanent dû à la mère)

		$h^2$	Portée	PE
SBF	SWT	0.34 (0.12)	-	0.29 (0.08)
	MD	0.39 (0.11)	-	-
	FD	0.42 (0.12)	-	-
SUF	SWT	0.20 (0.08)	0.12 (0.06)	-
	MD	0.21 (0.08)	0.20 (0.08)	-
	FD	0.23 (0.1)	0.22 (0.08)	-
TEX	SWT	0.29 (0.06)	0.31 (0.04)	0.06 (0.03)
	MD	0.34 (0.06)	0.27 (0.04)	-
	FD	0.32 (0.06)	0.19 (0.05)	-

#### 3.1.2.4.3. Corrélations entre les différents caractères d'infestation et de production

Les corrélations estimées sont présentées dans les tableaux 17, 18 et 19 pour les races SBF, SUF et TEX respectivement.

Les corrélations entre les FEC de strongles et de *Nematodirus spp.* (corrélation génétique, notée rg, et corrélation phénotypique, notée rp) ont été trouvées généralement faibles mais positives. La corrélation la plus forte a été estimée à 0,35 pour la rg entre InfS et InfN pour les races TEX et SBF. Pour cette dernière race, rg n'était pas significativement différente de 0. Ces corrélations basses ont notamment été estimées pour SUF avec des valeurs n'excédant pas 0,20. Cependant les corrélations impliquant le caractère binaire N se détachent quelque peu de la tendance décrite pour les FEC considérés de manière continue même si la corrélation avec InfN était élevée. Les corrélations entre InfS et N variaient dans un intervalle de valeurs moyennes à faibles. Cependant les données pour SUF présentent une rg remarquablement élevée de 0,60. Mais étant donné la faible précision des valeurs estimées, il est impossible de tirer une quelconque conclusion. Si l'on considère la rp entre N et InfS, les résultats varient dans un intervalle compris entre 0,20 et 0,30, SBF ayant la valeur la plus élevée (0,27 s.e.=0,04).

**Tableau 17.** Corrélations estimées pour la race SBF (légende: corrélation phénotypique au-dessus de la diagonale; corrélation génétique au-dessous de la diagonale; erreur standard en italique; InfS=ln(FEC+cte) pour les *Strongles*; InfN=ln(FEC+cte) pour *Nematodirus*; Nc = Statut d'infestation envers *Nematodirus* considéré comme continu ; swt = poids vif; md = épaisseur musculaire; fd = épaisseur de gras dorsal).

	InfS	InfN	Nc	swt	md	fd
<b>InfS</b>	-	0.33	0.27	-0.04	-0.06	-0.11
		<i>0.04</i>	<i>0.04</i>	<i>0.05</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>InfN</b>	0.35	-	0.85	-0.13	-0.07	-0.07
	<i>0.28</i>		<i>0.01</i>	<i>0.05</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>Nc</b>	0.32	0.97	-	-0.06	-0.08	-0.03
	<i>0.30</i>	<i>0.00</i>		<i>0.05</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>swt</b>	0.01	-0.19	-0.28	-	0.62	0.51
	<i>0.34</i>	<i>0.23</i>	<i>0.23</i>		<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>md</b>	-0.37	-0.06	-0.02	0.77	-	0.45
	<i>0.28</i>	<i>0.23</i>	<i>0.23</i>	<i>0.12</i>		<i>0.03</i>
<b>fd</b>	-0.36	-0.19	-0.19	0.68	0.64	-
	<i>0.29</i>	<i>0.22</i>	<i>0.23</i>	<i>0.16</i>	<i>0.14</i>	

**Tableau 18.** Corrélations estimées pour la race SUF (légende donnée au tableau 17)

	InfS	InfN	Nc	swt	md	fd
<b>InfS</b>	-	0.17	0.19	-0.06	-0.04	-0.01
		<i>0.04</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>InfN</b>	0.11	-	0.85	0.00	0.04	0.00
	<i>0.22</i>		<i>0.01</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>N</b>	0.60	0.98	-	-0.01	0.04	0.01
	<i>0.20</i>	<i>0.04</i>		<i>0.04</i>	<i>0.04</i>	<i>0.04</i>
<b>swt</b>	-0.04	0.10	0.28	-	0.63	0.55
	<i>0.26</i>	<i>0.27</i>	<i>0.28</i>		<i>0.03</i>	<i>0.03</i>
<b>md</b>	-0.29	0.45	0.53	0.55	-	0.40
	<i>0.23</i>	<i>0.24</i>	<i>0.26</i>	<i>0.20</i>		<i>0.04</i>
<b>fd</b>	0.21	0.26	0.46	0.31	0.36	-
	<i>0.25</i>	<i>0.27</i>	<i>0.28</i>	<i>0.25</i>	<i>0.23</i>	

**Tableau 19.** Corrélations estimées pour la race TEX (légende donnée au tableau 17)

	<b>InfS</b>	<b>InfN</b>	<b>Nc</b>	<b>swt</b>	<b>md</b>	<b>fd</b>
<b>InfS</b>	-	0.22	0.21	-0.02	-0.03	0.02
		0.02	0.02	0.03	0.03	0.03
<b>InfN</b>	0.35	-	0.89	0.00	-0.02	-0.01
	0.11		0.00	0.03	0.03	0.03
<b>Nc</b>	0.31	0.97	-	0.01	-0.02	0.00
	0.12	0.02		0.03	0.03	0.03
<b>swt</b>	0.15	0.26	0.26	-	0.66	0.54
	0.13	0.15	0.15		0.02	0.02
<b>md</b>	0.01	0.04	0.07	0.66	-	0.40
	0.12	0.14	0.15	0.07		0.02
<b>fd</b>	0.13	0.11	0.14	0.50	0.29	-
	0.12	0.14	0.15	0.10	0.11	

Deux tendances peuvent être dégagées concernant les corrélations entre les caractères d'infestation et les caractères de production. En effet, pour chaque caractère et dans chaque race les  $r_p$  ont été estimées à des valeurs proches de 0. Quelquefois positives, comme la corrélation entre N et MD pour SUF, ces  $r_p$  ont été trouvées le plus souvent négatives (tableaux 17, 18, 19). Au contraire, les  $r_g$  se trouvent dans des intervalles de valeurs plus élevées atteignant 0,53 entre N et MD pour SUF. Même si aucune de ces  $r_g$  estimées n'est significativement différente de 0, il est tout de même intéressant de noter que les  $r_g$  tendent à être négatives pour SBF alors qu'elles sont toutes positives pour TEX et presque toutes pour SUF (7 sur 9). Les  $r_g$  avec MD tendent à être les plus proches de 0 pour SBF et TEX. SWT présente par ailleurs des corrélations très faibles avec InfS quelque soit la race considérée.

### 3.1.2.5. Discussion

#### 3.1.2.5.1. A propos des FEC de strongles et de *Nematodirus spp.*

Les valeurs de FEC dans chaque race présentées dans cette étude correspondent aux valeurs habituellement trouvées, les FEC de strongles étant plus élevés que ceux de *Nematodirus spp.* (Bishop 2004; Wolf *et al.* 2007). Ceci est du à la forte proportion de valeurs à zéro pour *Nematodirus spp.* Les FEC n'ont pas pu être comparés entre les races puisqu'ils proviennent de fermes avec différentes gestions, différents environnements et différentes épidémiologies. Peu de comparaisons de résistance aux nématodes entre races sont disponibles en Europe, bien que TEX est dite plus résistante que SUF en terme de FEC et de



nombre de vers (Good *et al.* 2006). Cette différence n'a cependant pas été observée dans cette étude.

Les héritabilités estimées pour les caractères de résistance se situent également dans l'intervalle classique (Bishop & Morris 2007). Cependant nos résultats pour InfS soulignent la différence de résistance aux strongles entre SUF et TEX d'une part, et SBF d'autre part, dont l'héritabilité n'atteint pas 0,15. Ce résultat est en accord avec l'étude de Bishop *et al.* (1996) menée sur des agneaux SBF. Il peut s'expliquer par la plus grande hétérogénéité d'environnement et de gestion des troupeaux SBF. Les héritabilités estimées pour InfN se situent dans un intervalle de valeurs plus élevées que celles trouvées par Morris chez les agneaux Romney (Morris *et al.* 2004), mais toujours dans l'intervalle de 0,23 à 0,55 estimé par Bishop pour des agneaux TEX (2004). Cependant la tendance observée pour InfS n'est pas retrouvée pour *Nematodirus spp.* En effet ce dernier produit peu d'œufs, plaçant les moutons dans une situation de moindre infestation par rapport aux autres strongles. Les niveaux d'infestation tendent donc à être faibles partout rendant ainsi les conditions d'infestation à peu près identiques entre les individus. La conclusion principale de ces résultats est la possibilité d'obtenir du progrès génétique dans le cadre de la résistance aux nématodes.

#### 3.1.2.5.2. Corrélations entre caractères

Pour les trois races considérées, toutes les corrélations entre InfN et InfS ont été trouvées positives avec des valeurs moyennes à faibles. Ceci confirme que des mécanismes communs sont impliqués dans la résistance aux strongles et à *Nematodirus spp.* Nos résultats sont plus faibles que ceux généralement trouvés (Bishop *et al.*, 2004; Morris *et al.*, 2004; Wolf *et al.*, 2007), mais la taille de l'intervalle de confiance pour ces valeurs nuit à la précision de l'interprétation pouvant être faite.

Les corrélations entre les FEC et les performances zootechniques varient habituellement en fonction de la zone géographique considérée : forte et négative en Europe mais négative et proche de 0 en Australie et Nouvelle-Zélande (Bishop *et al.*, 2004). Des corrélations positives ont également été rapportées (Eady 1998). Nos résultats correspondent à toutes ces tendances sans pour autant qu'aucune des corrélations estimées ne soit différente de zéro d'un point de vue statistique. Cependant plusieurs tendances peuvent être extraites. En effet les  $r_g$  ont été trouvées négatives pour SBF contrairement à TEX, tandis que SUF présente une situation intermédiaire avec une majorité de valeurs positives. Cette différence peut être expliquée par la sélection menée dans chaque race. TEX et SUF ont été

sélectionnées pour améliorer le poids vif et l'épaisseur de muscle des animaux. Van der Waaij et al. (2000) ont démontré que la sélection d'animaux confrontés à un environnement contaminé de manière constante (comme les pâtures le sont par les vers) place la pression de sélection sur les animaux résistants/résilients. En effet les animaux peu résistants n'arriveront pas à maintenir un niveau de production acceptable et ne seront donc pas considérés dans un schéma de sélection. On peut alors se poser la question de l'intérêt de la mesure de caractères de résistance pour augmenter cette dernière. La réponse se trouve dans les corrélations estimées entre les caractères de production et de résistance : les valeurs trouvées sont faibles, ce qui nuirait à la précision de la sélection, mais, de plus, défavorables dans les races SUF et TEX.

#### 3.1.2.5.3. A propos du caractère binaire

Les FEC ont été utilisés comme indicateurs indirects de l'infestation des moutons pour toutes les études de résistance aux nématodes comme le résume Bishop et Morris (2007). Dans cet article les auteurs suggèrent également la récente tendance à explorer de nouveaux indicateurs de résistance: taille des vers, nombre d'œufs dans les femelles adultes, IgA, IgG spécifiques ou des indicateurs relatifs à la pathogénèse comme la concentration en pepsinogène. Dans certains cas, les FEC apparaissent limités en tant qu'indicateurs de l'infestation, spécialement dans le cas de *Nematodirus spp.* (McKenna 1981). Ce ver produit peu d'œufs ce qui conduit à un nombre important de valeurs nulles. De plus, les stades larvaires sont les plus pathogéniques. D'où la décision de considérer un modèle à seuil. Ce modèle appliqué aux strongles n'a pas donné de résultats satisfaisants. Il est possible qu'il n'existe pas de distribution sous-jacente aux observations dans le cas des strongles, ou bien que cette distribution ne soit pas normale. D'après nos connaissances, ce genre de caractère n'a pas été appliqué jusqu'alors pour la résistance aux nématodes. Les fortes corrélations obtenues avec InfN suggèrent que ce caractère binaire est un caractère intéressant comme indicateur de la résistance. Cependant Eady et al. (2007) dans leur étude sur la résistance du lapin à différentes infections ont souligné l'inconvénient majeur de ce type de caractère : on ne peut estimer directement les solutions animales puisqu'il faut passer par un modèle père pour estimer les paramètres génétiques. Aucun index ne peut donc être construit à moins qu'une nouvelle méthodologie ne soit développée.

Dans ce cas l'utilisation du statut infesté ou non par *Nematodirus spp.* pourrait constituer un outil intéressant de sélection. En effet les agneaux, même naïfs, semblent se débarrasser du parasite aux alentours du 21<sup>e</sup> jour post-infestation (Winter, 2002). Cette

efficacité de la réponse immunitaire n'est pas tout à fait la même que pour les autres strongles, pour qui une réponse plus forte est requise. Ainsi, tout animal infesté par *Nematodirus* peut être considéré comme étant moins efficace dans sa réponse immune face aux nématodes. Ces animaux, une fois détectés, pourraient être éliminés des schémas de sélection. Trois points sont cependant opposables à cette hypothèse. Premièrement, même si InfS et N sont génétiquement corrélés positivement, la biologie de ces vers est différente : par exemple *Nematodirus* s'attache autour des villosités intestinales et flotte dans la lumière du tube digestif alors que *Trichostrongylus spp.* s'insère sous la muqueuse. De ce premier point découle le suivant concernant la réponse immune en jeu : l'immunité dirigée contre *Nematodirus* ne sera pas nécessairement efficace contre les autres strongles même si les mécanismes sont communs (recrutement d'éosinophiles et de mastocytes). Ceci peut d'ailleurs expliquer les faibles corrélations entre InfN et InfS alors que Gruner et al. (2004) ont estimé des corrélations autour de 1 pour la résistance à *H. contortus* et *T. colubriformis*. Troisièmement, les FEC ne sont qu'une mesure ponctuelle de l'état de l'infestation chez un mouton, ce qui en fait des indicateurs peu précis de la réponse immune du mouton.

### 3.2. Détection de QTL pour la résistance à *Salmonella enterica subsp. enterica ser. abortusovis*

#### *3.2.1. Introduction*

L'impact économique du genre bactérien *Salmonella* sur l'élevage est dû en majeure partie à la prévention des toxi-infections alimentaires qu'il occasionne, surtout les sérovars Enteritidis et Typhimurium (Bennett & Ijpelaar 2003). En effet *Salmonella* est classé comme la première cause de toxi-infection alimentaire en Europe (EFSA 2007). *Salmonella* est capable de passer au travers de l'épithélium intestinal et d'atteindre les nœuds lymphatiques mésentériques. Les capacités de survie dans les macrophages ou les cellules épithéliales conditionnent alors la dissémination extra-intestinale. Ceci conduit alors à une contamination systémique, notamment utérine. C'est pourquoi les œufs constituent l'aliment le plus souvent incriminé dans les contaminations (EFSA 2007). Etant donné que les porteurs asymptomatiques sont fréquents il est difficile de mettre en place des moyens de contrôle efficaces. La vaccination a connu des succès variés contre les *Salmonelles* non spécifiques d'hôtes (Barrow 2007), tandis que les antibiotiques ne constituent plus une alternative durable. En effet les nombreuses résistances rapportées pour le sérovar Typhimurium chez l'homme,

les bovins et le porc (EFSA 2007), et la défiance grandissante vis-à-vis des résidus chimiques alimentaires soulignent la nécessité de développer d'autres moyens de contrôle.

Dans ce contexte, la sélection d'animaux génétiquement résistants aux salmonelles apparaît donc être un moyen de contrôle adapté. En effet des études ont mis en évidence une variation génétique chez la souris, le porc, la volaille (Wigley 2004) et le mouton (Moreno *et al.* 2003). Des QTL ont également été cartographiés pour la résistance contre les sérovars enteritidis et typhimurium (Davies *et al.* 2008). De plus certains gènes comme *SLC11A1* et *TLR4*, ont été associés à la résistance contre les deux derniers sérovars chez la souris et la poule (Tilquin *et al.* 2005), tandis que le CMH joue un rôle crucial chez la souris et semble également impliqué chez la poule (Wigley 2004). Parmi ces gènes, *SLC11A1* est connu pour contrôler la résistance aux salmonelles et à d'autres pathogènes intracellulaires. Ce gène code pour un transporteur de cation divalent localisé sur la membrane des phagosomes dans les macrophages (Blackwell *et al.* 2001). Une mutation à l'acide aminé 169 rend les souris sensibles à l'infection par *Salmonella typhimurium*, ainsi qu'à d'autres pathogènes intracellulaires (Vidal *et al.* 1995). Mais son rôle doit toujours être confirmé chez d'autres espèces comme le porc ou le mouton, et pour d'autres sérovars que typhimurium et enteritidis.

Essayant de répondre à cette question, Moreno *et al.* (2003) ont estimé des paramètres génétique pour la résistance à *Salmonella abortusovis* (SAO) dans un troupeau expérimental de race Romane (antérieurement appelée INRA401). Ce sérovar provoque des avortements chez la brebis et une mortalité précoce des agneaux, mais n'a aucun effet zoonotique, le rendant ainsi plus facile à manipuler (Pardon *et al.* 1990). De plus, une souche vaccinale atténuée Rv6 (Lantier *et al.* 1981) était disponible lors de l'étude permettant ainsi d'éviter tout risque de disséminer la maladie. Par ailleurs, la diffusion systémique durant l'infection constitue un bon modèle pour les sérovars enteritidis et typhimurium. Une étude avait montré de façon encourageante que la sensibilité à SAO chez la souris était également contrôlée par *SLC11A1* (Gautier *et al.* 1998). La découverte d'un éventuel rôle de ce gène de résistance à SAO chez le mouton pourrait éventuellement s'appliquer à d'autres bactéries intracellulaires agents d'avortement comme *Coxiella burnetti* responsable de la fièvre Q, ou bien *Chlamydophila abortus* agent des avortements enzootiques.

Moreno *et al.* (2003) ont démontré avec succès que la résistance du mouton à SAO était en partie sous contrôle génétique avec des héritabilités comprises entre 0,10 et 0,64 en fonction du caractère considéré. Ces résultats, et le rôle essentiel de *SLC11A1* chez d'autres espèces ont motivé une analyse QTL. En utilisant les mesures phénotypiques obtenues pour l'estimation des paramètres génétiques, Moreno (2003) a détecté dix QTL. Parmi eux, un

QTL affectant la concentration d'Ig-M à 7 jours post-infection a été cartographié à 84 cM de *SLC11A1*. Deux autres QTL pour les concentrations d'IgG1 à 7 jours post-infection et pour la variation d'IgG1 ont été détectés dans les régions du CMH. Les sept autres QTL détectés n'ont pas pu être associés à d'autres gènes candidats.

Le but de cette étude était de confirmer les QTL trouvés par Moreno en 2003, et d'étudier plus en profondeur un éventuel rôle de *SLC11A1* dans la sensibilité du mouton à SAO. Six marqueurs additionnels ont donc été génotypés sur OAR2 pour augmenter la robustesse et la précision de la détection de QTL dans la région de *SLC11A1*.

### 3.2.2. Matériels et méthodes

#### 3.2.2.1. Animaux

1216 agneaux de race Romane issus de 30 pères (tableau 20) ont été produits en 3 différentes séries. Etant donné la gestion du troupeau expérimental de La Sapinière, toutes les femelles nées pendant la deuxième série ont été gardées pour le renouvellement. La race romane est issue du croisement entre la race Berrichon du cher et la race Romanov, deux races ayant des sensibilités opposées à l'infection par SAO. De plus cette variabilité génétique inter-race était favorable à la détection de QTL (Moreno *et al.* 2003).

**Table 20.** Nombre de béliers, brebis et agneaux par série d'accouplement (Moreno *et al.* 2003)

	Sex	Batch 1 (mating in October 94)	Batch 2 (mating in July 95)	Batch 3 (mating in October 95)	Total
Parents	M	15	30	15	30
	F	255	275	252	697
Offspring	M	198	337	172	707
	F	218	0	204	422
	M + F	416	337	376	1129

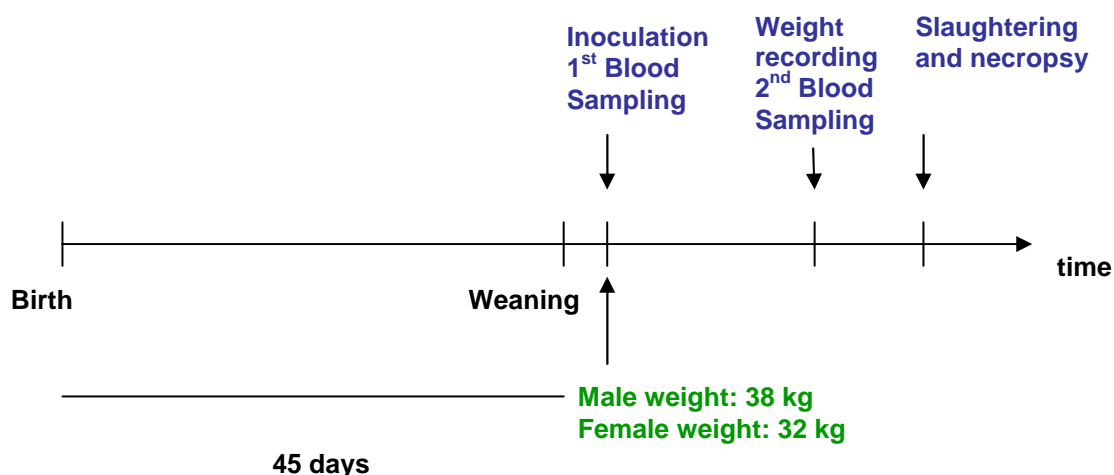
#### 3.2.2.2. Infection expérimentale

Tous les agneaux ont été infectés par 10<sup>8</sup> SAO Rv6 en intraveineuse lorsqu'ils ont atteint 38 ou 32 kg pour les mâles et les femelles respectivement, poids correspondant à un âge moyen de 113 jours. La souche Rv6 a été mise au point à partir d'une souche virulente 15/5 streptomycine-dépendante (Lantier *et al.* 1981). Même si elle induit une réponse immune

plus faible que celle de la souche virulente, l'utilisation d'une souche vaccinale a permis de contrôler le risque d'épidémie. De plus il a été vérifié que les réponses immunitaires entre les deux souches étaient similaires (Gohin *et al.* 1997). Durant l'infection, vingt moutons témoins ont été gardés pour s'assurer de l'absence d'autres sources de SAO dans l'élevage.

### 3.2.2.3. Mesures phénotypiques

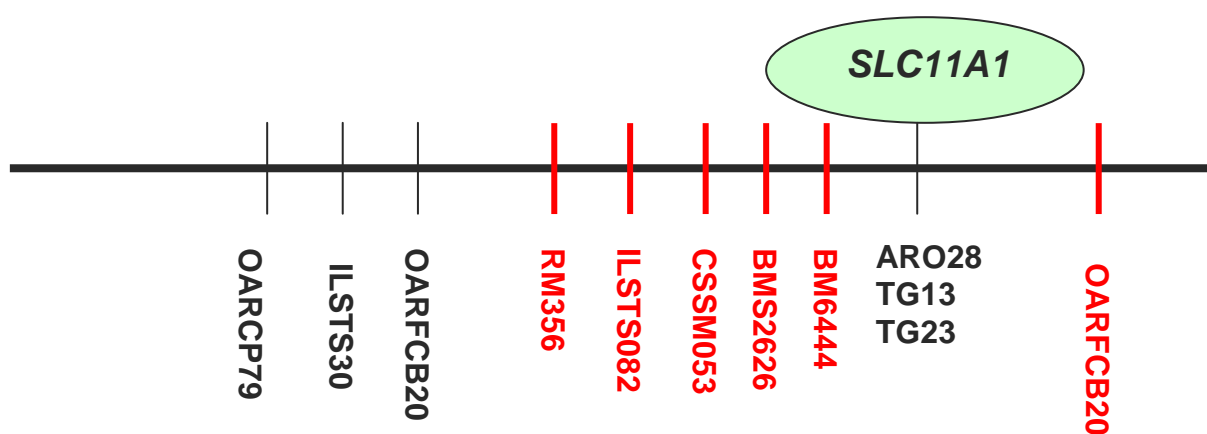
Les caractères mesurés sont ici brièvement rappelés et sont décrits complètement dans la publication de Moreno et al (2003). Les mesures attestant de la résistance consistent en les concentrations plasmatiques d'IgM et d'IgG1, déterminées à la fois à l'inoculation (IgM<sub>0</sub> and IgG1<sub>0</sub> respectivement) et 7 jours plus tard juste avant l'abattage des animaux (figure 8). Cette dernière valeur permet d'évaluer les variations de concentrations en IgM et IgG1 (Var-IgM and Var-IgG<sub>1</sub> respectivement) comme un paramètre de surveillance de la réponse immune contre SAO. De plus les SAO ont été comptées dans la rate (BgS) et dans les nœuds lymphatiques pré-scapulaires droit (BgRN) et gauche (BgLN). De plus la perte de poids (loss-Wt) a été mesurée tout comme le poids de la rate (WtrS), et des deux nœuds lymphatiques droit et gauche (WtRN, WtLN) cités précédemment (tableau 21).



**Figure 8.** Représentation schématique du protocole expérimental

**Tableau 21.** Notation des paramètres mesurés (Moreno *et al.* 2003)

Notation	Measured variable
IgG1 <sub>0</sub>	IgG1 titre at vaccination
IgG1 <sub>7</sub>	IgG1 titre seven days post-infection
Var-IgG1	IgG1 titre variation between vaccination and slaughtering
IgM <sub>0</sub>	IgM titre at vaccination
IgM <sub>7</sub>	IgM titre seven days post-infection
Var-IgM	IgM titre variation between vaccination and slaughtering
BgLN	Bacterial count per gram of tissue in the left pre-scapular lymph node
BgRN	Bacterial count per gram of tissue in the right pre-scapular lymph node
BgS	Bacterial count per gram of tissue in the spleen
WtLN	Left pre-scapular lymph node weight
WtRN	Right pre-scapular lymph node weight
WtrS	Spleen weight corrected for body weight
loss-Wt	Body weight loss between vaccination and slaughter



**Figure 9.** Représentation schématique des marqueurs génotypés sur OAR2 (les 6 marqueurs additionnels sont indiqués en rouge)

#### 3.2.2.4. Génomique et carte génétique

L'information moléculaire consistait en 70 marqueurs microsatellites répartis sur 22 chromosomes génotypés pour les 30 familles. Parmi ceux-ci, 64 avaient déjà été génotypés pour la première analyse QTL en trois différentes séries de 20, 20 et 24 marqueurs en 1996, 2000, et 2002, respectivement. En 2002, étant donné le trop petit nombre de marqueurs sur le chromosome 2, les analyses n'avaient pu conclure sur le rôle de *SLC11A1* (Moreno 2003). Pour cette nouvelle étude, 6 marqueurs additionnels sur OAR2 ont été génotypés pour les pères et leur descendance (Labogena, Jouy-en-Josas) dans la région de *SLC11A1* (figure 9).

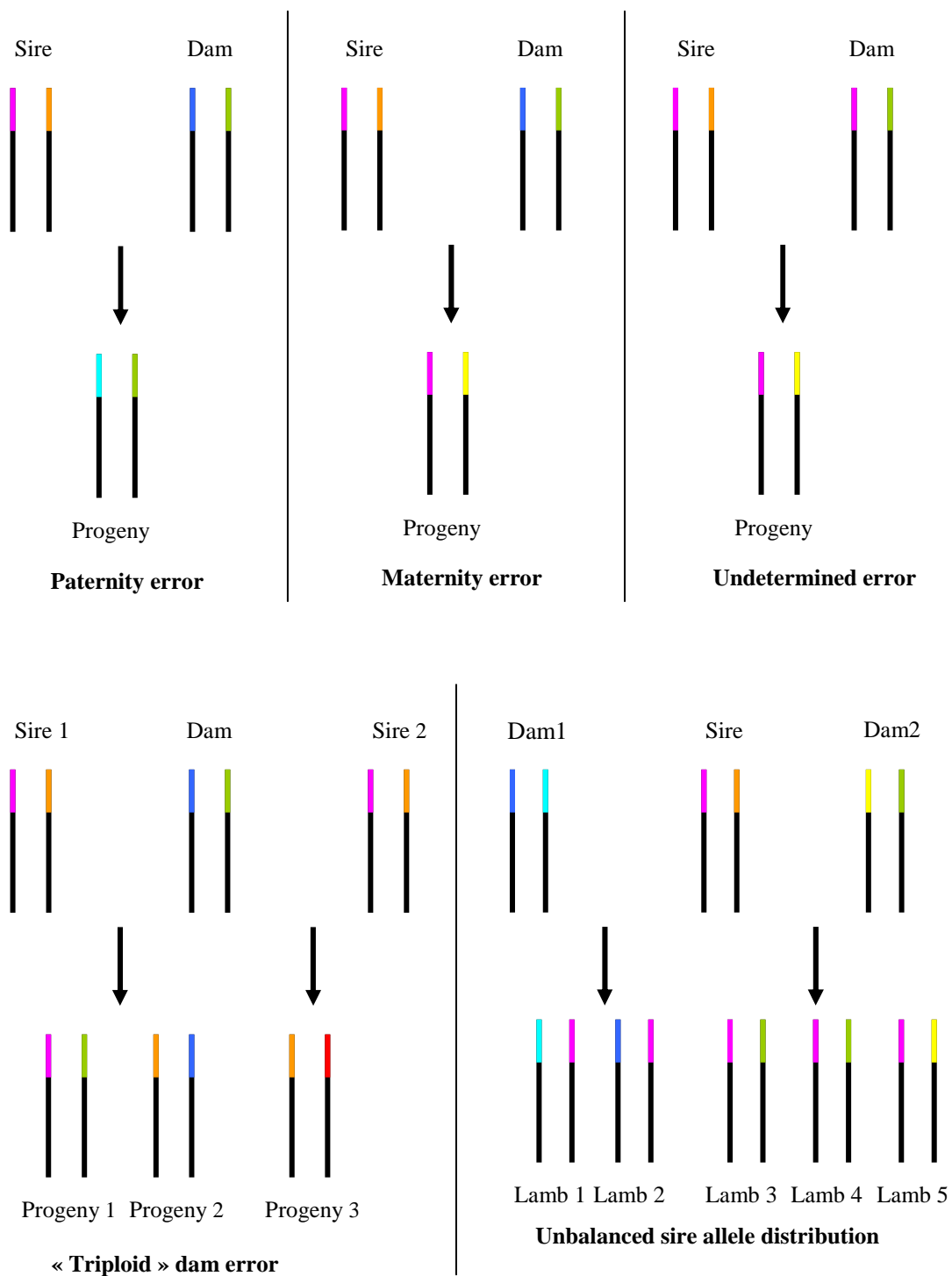
Avant toute analyse génétique, les données ont été vérifiées afin d'éliminer les erreurs de génotypage. Sur la base des règles de la ségrégation mendélienne des gènes, trois différents types d'erreurs peuvent être définis (figure 10). Les erreurs de paternité/maternité apparaissent quand un père ou une mère a un génotype n'ayant pas d'allèle en commun avec ses descendants. Le troisième type d'erreur ne peut pas être déterminé comme étant lié au père ou à la mère et est donc considéré comme indéterminé. En effet dans ce cas, un des allèles de l'agneau ne correspond à aucun des allèles parentaux, tandis que le père et la mère ont un allèle identique qui a été transmis à leur descendant (figure 10). Il est alors impossible de savoir quel parent a transmis l'allèle « faux », ce qui rend cette erreur indéterminable.

Deux critères empiriques ont été déterminés pour corriger un éventuel déséquilibre de transmission des allèles paternels. De tels déséquilibres peuvent être dus à une mauvaise lecture durant l'étape de génotypage. La répartition anormale d'un allèle a d'abord été vérifiée dans la population informative. Dans ce cas un test de Student a été utilisé pour tester si la proportion d'individus porteurs de l'allèle le plus fréquent était significativement différente de la moitié de la population informative. Deuxièmement, l'allèle le moins transmis devait être porté par au moins 5 descendants, seuil empirique minimal pour pouvoir mener des analyses statistiques.

Les distances entre les marqueurs ont été estimées en utilisant l'option « two point » de Cri-map (Green *et al.* 1990). Cette carte a ensuite été comparée à la carte génétique SM4.7 du mouton (Maddox & Cockett 2007). Le logiciel Cri-map a également permis de détecter des mères qui semblaient avoir transmis plus de 2 allèles à leur descendance, comme si elles avaient un génome triploïde (figure 10).



**Figure 10.** Représentation schématique des différentes erreurs de génotypage (les segments colorés représentent les versions alléliques d'un marqueur donné)



### 3.2.2.5. Analyses statistiques

Des analyses préliminaires ont été menées (SAS<sup>®</sup> UNIVARIATE procedure, SAS Institute Inc.) pour chaque caractère afin d'estimer leurs moyennes, variances et écart-types. Les écarts à la normalité ont été vérifiés par le test de Shapiro-Wilk. Pour corriger ces déviations, une transformation logarithmique a été appliquée aux caractères concernés comme suit :

$$X = \text{Log}10(Y+k)$$

où  $Y$  est le caractère mesuré,  $k$  est une valeur minimale telle que  $Y+k$  est toujours positif et  $X$  est la donnée transformée, par la suite dénommée *Log-Y* (e.g. Log-WtLN).

Chaque caractère a été pré-corrigé pour les effets fixes généralement rencontrés (SAS<sup>®</sup> GLM procedure, SAS Institute Inc.) comme le sexe, l'année de naissance des agneaux, le mode d'allaitement (né et allaité seul, né multiple-allaité seul, né et allaité jumeaux, né triplé ou quadruplet et allaité artificiellement) et père. De plus l'âge à la vaccination a également été testé avec 4 niveaux (moins de 99 jours, 99 à 115 jours, 115 à 130 jours, plus de 130 jours). La classe de poids (3 niveaux) définie intra-sexe a également été testée.

### 3.2.2.6. Analyses unimarqueur

Afin de détecter un effet particulièrement fort d'un marqueur, spécialement autour de *SLC11A1*, une analyse unimarqueur a été menée. Chaque marqueur a été testé comme effet fixe niché dans l'effet père, en plus de l'effet père et des autres effets fixes significatifs préalablement définis (3.2.2.5).

### 3.2.2.7. Détection de QTL

#### 3.2.2.7.1. Cartographie d'intervalle et le logiciel QTLMAP

La localisation des QTL a été déterminée par une méthode de cartographie d'intervalle par estimation de la vraisemblance (Lander & Botstein 1989). A chaque position  $x$  du génome, c'est-à-dire tous les 1 cM, une fonction de vraisemblance conditionnelle du génotype et de la position des marqueurs flanquants, est estimée sous l'hypothèse qu'il y a un QTL. On peut ainsi à la fois détecter et localiser les QTL. En effet cette hypothèse  $H1$  est ensuite comparée à l'hypothèse  $H0$  qu'il n'y a pas de QTL à cette position, grâce à un rapport de vraisemblance (LRT).

Ces calculs ont été réalisés à l'aide du logiciel QTLMAP qui utilise des modèles alternatifs résumés ci-après (Elsen *et al.* 1999). La vraisemblance sous H1 à la position  $x$  est définie comme le produit des vraisemblances intra-pères  $\Lambda_i$ :

$$\Lambda^x = \prod_i \Lambda_i^x = \prod_i \sum_{hs_i} p(hs_i / M_i) \prod_{j=1}^{n_i} \sum_{q=1}^2 p(d_{ij}^x = q / hs_i, M_i) f(yp_{ij} / d_{ij}^x = q)$$

Il dépend d'une fonction supposée normale  $f$  (moyenne,  $\mu_i^{xq}$  et variance,  $\sigma_e^2$ ), représentant les phénotypes  $yp$  du descendant  $ij$  issu de l'accouplement entre le bélier  $i$  et la brebis  $j$ . Cette fonction est conditionnelle du segment chromosomique  $q$  hérité du père  $i$ , et représente donc un mélange pondéré de distributions normales. Dans QTLMAP il est supposé que le QTL putatif a un effet modéré. C'est pourquoi les différences entre les moyennes des individus sont prédites comme étant modérées également. Ceci permet donc de considérer une fonction globale avec une moyenne pondérée par les probabilités de transmission du segment chromosomique  $p(d_{ij}^x = q / hs_i, M_i)$  et une variance  $\sigma_e^2$ . Une autre alternative implémentée dans l'algorithme de QTLMAP est de limiter le nombre d'haplotypes paternels considérés, *i.e.*  $p(hs_i / M_i)$ , en ne prenant en compte que le génotype le plus probable  $hs_i$ . Cela permet de réduire la complexité des calculs tout en ne faisant qu'une hypothèse faible puisque les phases parentales sont en général connues avec une très forte probabilité à partir du génotypage ou reconstruites à partir des génotypes des descendants.

Dans la cartographie d'intervalle, tous les tests menés sur un groupe de liaison donné ne sont pas indépendants entre eux. Il est donc nécessaire d'estimer la statistique de test pour une population donnée et un groupe de liaison donné, de manière à déterminer un seuil validant les résultats. Ceci peut être fait en cassant les associations existantes entre les génotypes et les phénotypes par l'intermédiaire de permutations. Il est alors possible de déterminer la valeur seuil de LRT qui apparaîtrait simplement par hasard (Churchill & Doerge 1994). Toute valeur au-delà de ce seuil sera alors significative (Lander & Kruglyak 1995). Dans cette étude les seuils à l'échelle du chromosome ont été déterminés après dix milles permutations. L'intervalle de confiance a été obtenu en retranchant 1 unité de LRT (Lander & Botstein 1989).

L'effet du QTL a été calculé comme la moyenne des effets intra-familles corrigée pour la dispersion. La significativité de cet effet a été testée par un test de Student.

#### 3.2.2.7.2. *Test de l'hypothèse bi-QTL*

##### 3.2.2.7.2.1. Cartographie d'intervalle multiple avec l'option bi-QTL du logiciel QTLMAP

Kao et al. ont proposé une approche pour tenir compte de la présence d'autres QTL durant l'analyse de détection de QTL (Kao *et al.* 1999). Cette méthode appelée multiple interval mapping (MIM) suppose que le caractère étudié est génétiquement contrôlé par  $m$  QTL putatifs appartenant à  $m$  intervalles de marqueurs. Tous ces intervalles sont utilisés simultanément dans une recherche multidimensionnelle. Dans le cas d'une analyse bi-QTL, la vraisemblance est calculée à chaque position du génome sous l'hypothèse qu'un premier QTL est présent dans un intervalle donné et qu'un autre QTL est présent dans un autre intervalle. Cette vraisemblance est alors maximisée pour une combinaison donnée de 2 positions correspondant aux localisations des QTL. Cette analyse a été faite à partir de l'utilisation de l'option bi-QTL de QTLMAP. Cette option teste tout d'abord l'hypothèse qu'aucun QTL n'est présent contre l'hypothèse de 2 QTL. Dans un deuxième temps une autre analyse teste l'hypothèse de 2 QTL contre l'hypothèse d'un seul QTL. Les seuils de significativité ont été estimés après 1000 simulations.

##### 3.2.2.7.2.2. Adaptation de la méthode de Composite Interval Mapping (CIM)

Une autre approche a consisté en l'adaptation de la méthode CIM développée par Zeng (Zeng 1994). Le CIM est basé sur une cartographie d'intervalle dans laquelle tous les marqueurs génétiques autres que les marqueurs flanquant l'intervalle testé sont considérés comme effets fixes corrigeant les phénotypes. La méthode utilisée dans cette étude se base sur une cartographie d'intervalle dans laquelle une combinaison de marqueurs flanquant la localisation d'un QTL putatif ont été mis en effets fixes. Une analyse uni-QTL a alors été faite après avoir supprimé les marqueurs considérés en effets fixes.

**Tableau 22.** Statistiques des caractères considérés

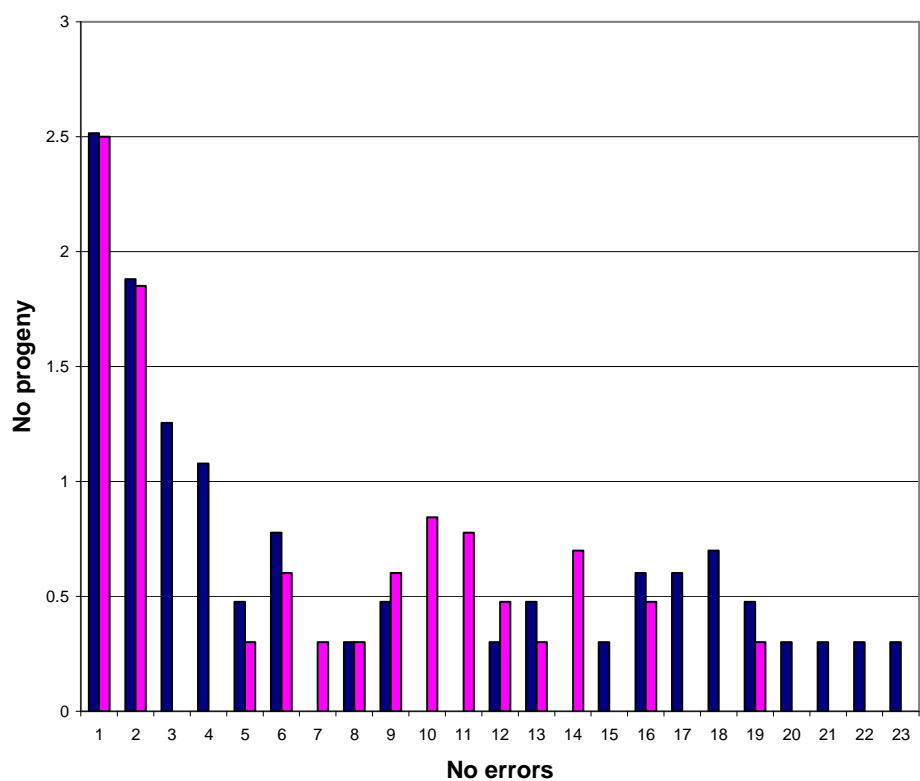
Variable	Unit	No measures	Mean	Std	Minimum	Maximum
IgM <sub>0</sub>	%	1126	17.6	8.2	1	49
IgM <sub>7</sub>	%	1123	105.4	36.4	7	213
Var-IgM	%	1123	87.8	36.1	-2	195
IgG1 <sub>0</sub>	%	1126	8.7	6.5	1	50
Var-IgG1	%	1123	14.9	16.1	-9	100
BgLN	g <sup>-1</sup>	1128	1046.2	2302.1	0	30350
BgRN	g <sup>-1</sup>	1128	965.8	2164.7	0	24106
BgS	g <sup>-1</sup>	1127	1.804	4.7	0	56.3
WtLN	g	1126	4.6	1.6	1.5	13.7
WtRN	g	1126	4.1	1.3	1.4	11
WtrS	mg.kg <sup>-1</sup>	1127	127.4	23.3	71	241.7
loss-Wt	kg	1129	1.6	20.8	-76	47

**Tableau 23.** Significativité des effets fixes

Variable	R <sup>2</sup>	Sex	Weight class within sex	Age class	Birth suckling status	rank Batch	Sire
IgM <sub>0</sub>	0.34	NS	NS	***	NS	***	***
IgM <sub>7</sub>	0.17	**	NS	*	NS	**	***
Var-IgM	0.16	*	NS	*	NS	*	***
Log-IgG1 <sub>0</sub>	0.12	NS	NS	**	**	***	***
Log-Var-IgG1	0.21	NS	NS	NS	*	***	***
Log-BgLN	0.10	*	NS	***	NS	NS	***
Log-BgRN	0.09	**	NS	*	NS	NS	***
Log-BgS	0.04	*	NS	NS	NS	NS	*
Log-WtLN	0.17	***	NS	***	NS	***	***
Log-WtRN	0.17	***	NS	***	NS	***	***
Log-WtrS	0.18	***	NS	***	***	***	***
Log-loss-Wt	0.10	***	*	**	NS	NS	**

Significance levels are expressed with asterisks: \*\*\* $P < 0.001$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \* $P < 0.05$ ; NS: not significant;

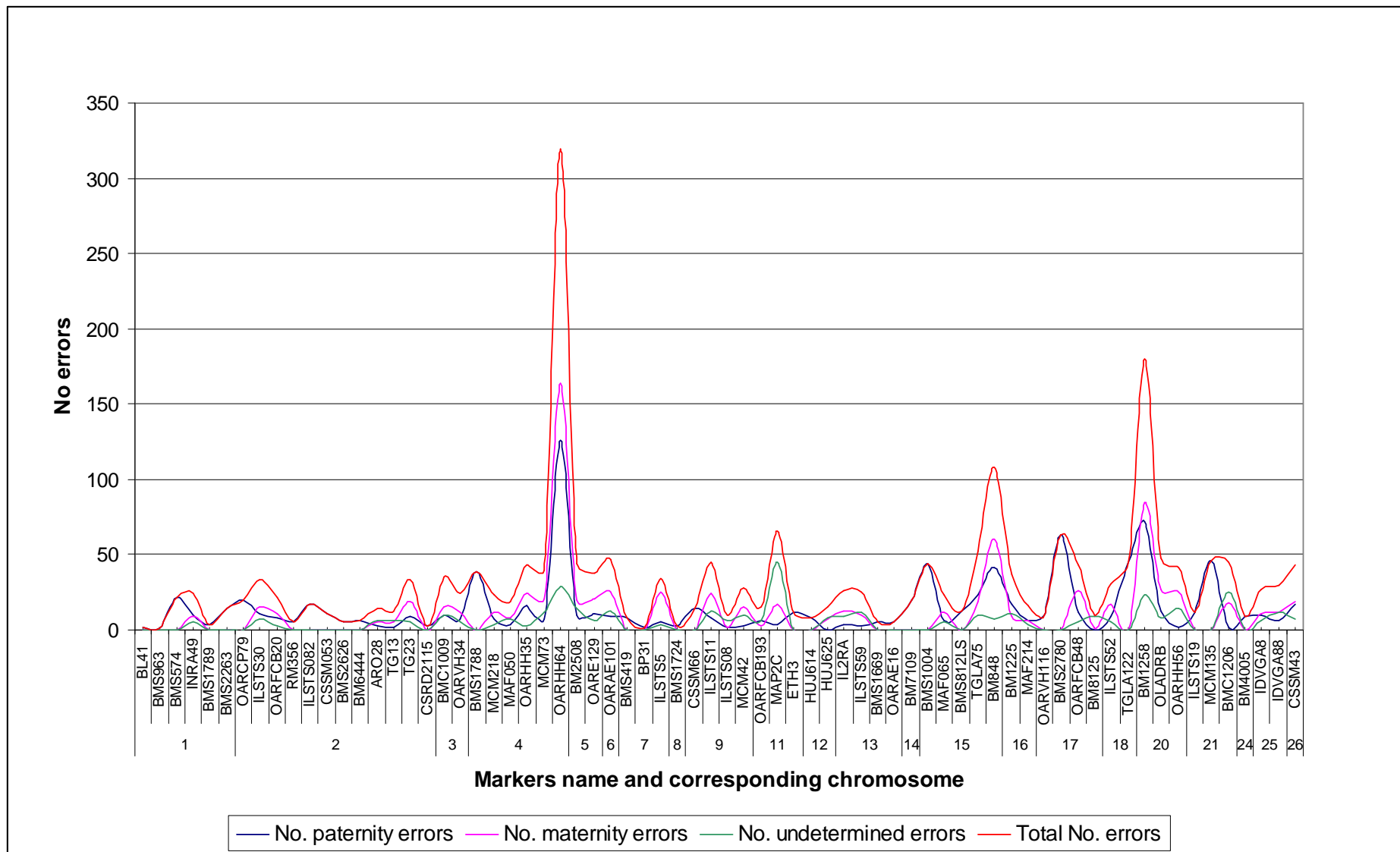
R<sup>2</sup> : coefficient of determination corresponding to the variance proportion explained by the model



**Figure 11.** Distribution des erreurs de génotypage entre les descendants et leurs parents

*(les barres bleues représentent le nombre d'erreur liées au père;*

*les barres roses, le nombre d'erreurs liées à la mère)*



**Figure 12.** Distribution des erreurs de génotypage par marqueur

### 3.2.3. Résultats

#### 3.2.3.1. Statistiques des caractères mesurés

Les statistiques de base sont rapidement rappelées pour les caractères considérés (tableau 22). Etant donné qu'aucun caractère ne suivait une distribution normale (les concentrations en IgM faisant exception), tous les caractères mesurés ont été transformés par une fonction logarithmique (Moreno et al., 2003). Ces écarts à la normalité étaient particulièrement marqués pour les comptages bactériens qui ont une asymétrie droite due à la fréquence importante de valeurs à zéro.

Les effets fixes significatifs étaient les mêmes que ceux trouvés par Moreno (2003). Parmi ceux-là, l'âge à la vaccination et le sexe étaient significatifs pour la plupart des caractères tandis que le poids des agneaux était seulement significatif pour la perte de poids (tableau 23).

#### 3.2.3.2. Décisions prises pour la correction des erreurs de génotypage

Pour ne pas prendre en compte des informations erronées il a été décidé de considérer un parent comme manquant pour un descendant présentant plus de 3 erreurs de génotypage.

Pour chaque marqueur, tous les autres types d'erreurs ont été corrigées en considérant les génotypes comme manquants selon les critères suivants :

- pour les individus ayant moins de 3 erreurs de génotypage, chaque marqueur mal génotypé a été ponctuellement considéré comme manquant ;
- les génotypes de la descendance complète née d'un père ayant une distribution déséquilibrée ont été considérés comme manquants

Le seuil de 3 erreurs est apparu comme étant le meilleur équilibre entre l'utilisation d'une information de bonne qualité et ne pas éliminer trop de génotypes (figure 11). En effet 460 agneaux avaient des erreurs liées au père parmi lesquels 419 avaient moins de 3 erreurs. De la même façon, 385 individus sur les 415 ayant une erreur de maternité avaient moins de 3 erreurs liées à la mère. Dans chaque situation on a pu ainsi sauver 92% des individus avec une erreur de génotypage, tandis que le père ou la mère des 8% restant ont été considérés comme manquants.



**Tableau 24.** Caractéristiques de la carte de liaison

OAR <sup>a</sup>	Linkage group length (cM)	No. markers	Mean	
			informativness of the markers (%)	Mean No. heterozygous markers by sire <sup>b</sup>
1 (325.2)	208	6	47	3.1 (0-6)
2 (315.2)	132	12	78	7.3 (3-11)
3 (302.3)	19	2	76	1.6 (0-2)
4 (147.8)	134	6	66	3.9 (1-6)
5 (158.9)	118	2	36	1.3 (0-2)
6 (155.7)	-	1	-	0.8 (0-2)
7 (144.4)	57	3	42	1.4 (0-2)
8 (127.8)	-	1	-	0.6 (0-1)
9 (126.9)	54	4	75	2.6 (1-4)
10	-	0	-	-
11 (109.6)	30	3	75	1.8 (1-3)
12 (106.4)	93	2	27	0.9 (0-2)
13 (128.3)	128	4	39	1.5 (0-3)
14 (118.9)	-	1	-	0.6 (0-1)
15 (123.8)	85	5	73	3.5 (2-5)
16 (84.7)	33	2	59	1.3 (0-2)
17 (130)	49	4	69	2.5 (0-4)
18 (127.7)	53	2	54	1.1 (0-2)
19	-	0	-	-
20 (99.9)	38	3	72	1.7 (1-3)
21 (75.5)	52	3	56	1.7 (0-3)
22	-	0	-	-
23	-	0	-	-
24 (81.6)	-	1	-	0.4 (0-1)
25 (68.3)	0	2	73	1.4 (0-2)
26 (71.1)	-	1	-	0.8 (0-1)
Total		70		

a: total chromosome length is given in brackets in centimorgans

b: minimum and maximum are given in brackets

### *3.2.3.3.Principales caractéristiques de la carte de liaison*

Les marqueurs à disposition ont permis d'explorer 17 chromosomes, *i.e.* OAR 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 20, 21 et 25. Les autres chromosomes étaient soit couverts par un marqueur, ou comme pour OAR 10, 19, 22 et 23, pas explorés du tout (tableau 24). Il faut noter que OARAE101 auparavant cartographié sur OAR4 a été déplacé sur OAR6 (Maddox & Cockett 2007).

Avant toute correction OAR4 avait le plus grand nombre d'erreurs de génotypage (483) alors qu'OAR1 ne présentait que 67 erreurs pour le même nombre de marqueurs (figure 12). En comparaison, OAR2 pour qui deux fois plus de marqueurs ont été génotypés, n'avait que 182 erreurs. OAR15 et OAR20 sont deux autres chromosomes avec un nombre d'erreurs important de 240 pour 5 marqueurs et 269 erreurs pour 3 marqueurs respectivement.

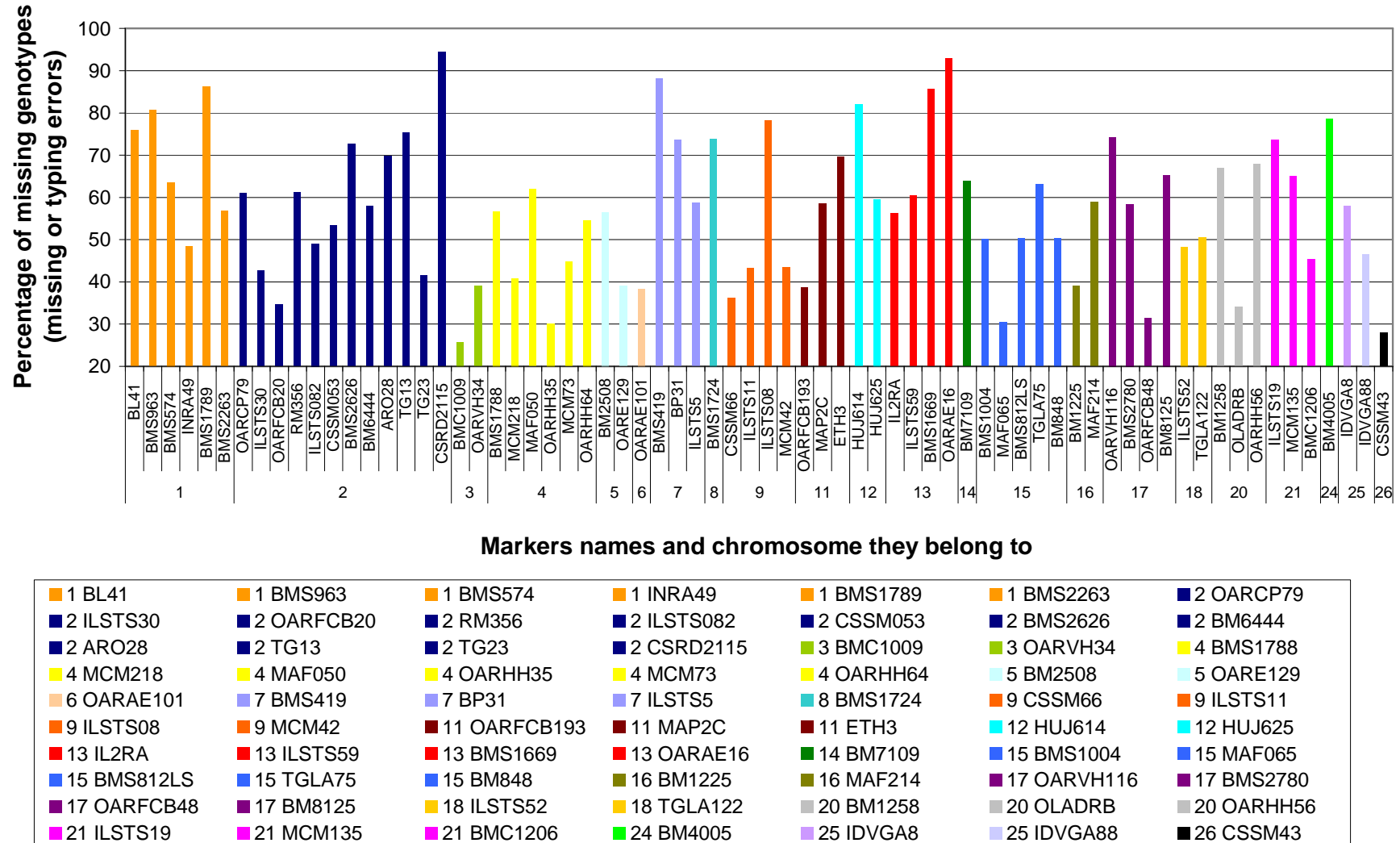
De façon intéressante les discordances entre les génotypes de la descendance et de leur père étaient les plus fréquentes, avec 68 marqueurs concernés. La répartition du pourcentage de génotypes manquants le long du génome illustre la qualité des données de génotypage (figure 13). En effet seulement 24 marqueurs avaient moins de 50% de génotypes manquants alors que tous les marqueurs avaient au moins 20% de génotypes manquants.

De plus CSRD2115, l'un des six nouveaux marqueurs d'OAR2, et OARAE116 (OAR13) était manquant pour 90% des agneaux génotypés. Par ailleurs plus de 50% des génotypes des 4 autres marqueurs que ILSTS082 présents sur OAR2 étaient manquants (figure 13).

Après correction, le nombre moyen de marqueurs hétérozygotes par père correspondait approximativement à la moitié des marqueurs à disposition. OAR15 avait le plus haut ratio avec 3,5 marqueurs hétérozygotes sur un total de 5 marqueurs, parvenant ainsi à 70% de marqueurs hétérozygotes. OAR2 fait également partie des chromosomes avec la plus forte proportion de marqueurs hétérozygotes (7,3 sur 12). De plus, 7 chromosomes (sur les 17 génotypés pour plus de 2 marqueurs) avaient au moins 70% de marqueurs informatifs. Ce pourcentage était le pire pour OAR5 et OAR12 qui n'étaient couverts que par 2 marqueurs.

Après avoir corrigé l'information moléculaire disponible, les distances relatives entre les paires de marqueurs ont été estimées et comparées à la carte SM4.7 (tableau 25). Ce tableau ne reprend que les distances pour les couples de marqueurs suffisamment proches pour être en association.

**Figure 13.** Pourcentage de génotypes manquants (après correction) sur l'ensemble du génome



**Tableau 25.** Comparaison entre la carte calculée et SM4.7 (Maddox & Cockett 2007)

OAR	Marker couple	Estimated linkage map		SM4.7
		<i>Recombination rate</i>	<i>Kosambi *</i>	<i>Distance (cM)</i>
1	BMS963 BL41	10%	10.14	13
	BMS574 BMS963	29%	33.12	23
2	ILSTS30 OARCP79	19%	20.00	21
	OARFCB20 OARCP79	25%	27.47	34
	OARFCB20 ILSTS30	11%	11.18	13
	RM356 ILSTS30	24%	26.15	29
	RM356 OARFCB20	17%	17.70	16
	ILSTS082 ILSTS30	34%	41.46	36
	ILSTS082 OARFCB20	24%	26.15	23
	ILSTS082 RM356	10%	10.14	7
	CSSM053 RM356	26%	28.82	25
	CSSM053 ILSTS082	16%	16.58	18
	BMS2626 RM356	26%	28.82	30
	BMS2626 ILSTS082	14%	14.38	23
	BMS2626 CSSM053	1%	1.00	5
	ARO28 BMS2626	20%	21.18	26
	ARO28 CSSM053	16%	16.58	19
	ARO28 BM6444	3%	3.00	2
	TG13 CSSM053	16%	16.58	19
	TG13 BMS2626	18%	18.84	14
	TG13 BM6444	3%	3.00	2
	TG13 ARO28	1%	1.00	0
	TG23 CSSM053	18%	18.84	19
	TG23 BMS2626	20%	21.18	14
	TG23 ARO28	1%	1.00	0
	TG23 TG13	2%	2.00	0
	TG23 BM6444	3%	3.00	2
	CSRD2115 ARO28	6%	6.03	25
	BM6444 CSSM053	17%	17.70	21
	BM6444 BMS2626	18%	18.84	16
	CSRD2115 TG23	16%	16.58	38
	CSRD2115 BM6444	8%	8.07	25
3	OARVH34 BMC1009	30%	34.66	18
4	MCM218 BMS1788	13%	13.31	16
	MAF050 MCM218	25%	27.47	44

OAR	Marker couple	Estimated linkage map		SM4.7
		Recombination rate	Kosambi *	Distance (cM)
4	OARHH35 MAF050	26%	28.82	51
	MCM73 OARHH35	21%	22.38	22
	OARHH64 OARHH35	22%	23.61	22
	OARHH64 MCM73	0%	0.00	0
7	ILSTS5 BP31	7%	7.05	2
9	ILSTS11 CSSM66	12%	12.24	16
	ILSTS08 ILSTS11	17%	17.70	28
	MCM42 ILSTS08	10%	10.14	10
	MCM42 ILSTS11	30%	34.66	44
11	MAP2C OARFCB19	9%	9.10	8
	ETH3 OARFCB19	17%	17.70	30
	ETH3 MAP2C	8%	8.07	19
13	BMS1669 ILSTS59	26%	28.82	25
15	MAF065 BMS1004	22%	23.61	20
	BMS812 MAF065	29%	33.12	49
	TGLA75 BMS812	6%	6.03	6
	BM848 BMS812	21%	22.38	15
	BM848 TGLA75	17%	17.70	9
16	BM1225 MAF214	not significant	not significant	33
17	BMS2780 OARVH116	3%	3.00	2
	OARFCB48 OARVH116	5%	5.02	2
	OARFCB48 BMS2780	8%	8.07	0
	BM8125 BMS2780	28%	31.64	47
	BM8125 OARFCB48	24%	26.15	43
18	TGLA122 ILSTS52	31%	36.25	53
20	OLADRB BM1258	13%	13.31	19
	OARHH56 OLADRB	16%	16.58	9
21	BMC1206 MCM135	18%	18.84	11
25	IDVGA88 IDVGA8	10%	10.14	28

\*: Kosambi genetic distance calculated from recombination rate as follow:

$25 \times \ln[(2r + 1) / (1 - 2r)]$ , with  $r$  being the recombination rate between the two markers (Lynch & Walsh 1998)

Pour certains chromosomes (OAR5, 7, 12 et 13), les distances entre les marqueurs n'étaient pas significatives étant donné que les marqueurs étaient trop éloignés l'un de l'autre. Cette distance n'était également pas significative pour OAR16 même si, selon la carte du génome ovin (Maddox et al. 2007) les deux marqueurs ne semblent pas être éloignés l'un de l'autre. Dans une première analyse, la distance entre les marqueurs OARHH64 et MCM73 était d'environ 8 cM. Cette valeur est en désaccord avec les 0 cM trouvés par Maddox et al. (2007). Cette distance a certainement été estimée en considérant des génotypes erronés non détectés qui ont donné lieu à de faux recombinants. Ces génotypes recombinants ont été retrouvés et supprimés à l'aide de l'option « chrompic » de CRI-MAP. Les autres marqueurs ont été trouvés aux mêmes localisations avec des variations comprises dans un intervalle de 20 cM. Ceci est sûrement dû aux différences existantes entre les cartes génétiques mâles et femelles. De plus les populations considérées ne sont pas les mêmes ce qui occasionne une source de variations supplémentaire.

#### 3.2.3.4. Analyse unimarqueur

La plupart des résultats obtenus sont en accord avec les résultats de Moreno (2003). Quelques variations ont cependant pu être observées pour des marqueurs ayant un effet faiblement significatif dont l'effet n'a pu être mis en évidence, et inversement (tableau 26). De la même façon, 4 chromosomes (OAR7, OAR8, OAR14 et OAR26) qui étaient associés à un des caractères de résistance par l'un de leurs marqueurs en 2003 n'ont pas pu être associés à nouveau dans cette étude. De plus les marqueurs BMS963 et OARAE16 qui étaient modérément significatifs en 2003 pour Var-IgM n'étaient plus significatifs du tout en 2009.

Parmi les 6 marqueurs nouvellement génotypés pour cette étude, seulement deux d'entre eux ont été détectés comme étant significatifs pour un caractère de résistance. BM6444 a été trouvé significatif pour Var-IgM, tandis que RM356 a été associé à IgM7, Var-IgM mais également à log-Bgs avec une p-value inférieure à 0,01 (tableau 26).

Six autres marqueurs ont été détectés comme ayant un effet modérément ( $p < 0.01$ ) ou hautement ( $p < 0.001$ ) significatif pour les caractères de résistance considérés. Parmi ceux-là, BMS2263 sur OAR1 a été associé à IgM<sub>0</sub>, tandis que TG23 localisé dans le gène *SLC11A1* a montré un effet hautement significatif sur Var-IgM. Toujours dans la proximité de *SLC11A1*, ILSTS30 a été hautement associé avec les comptages bactériens dans le nœud lymphatique pré-scapulaire droit et dans la rate, renforçant ainsi le statut de candidat de ce gène pour la résistance à SAO. De manière intéressante, les poids des deux derniers organes ont également été associés avec les marqueurs OARE129 (OAR5) et OARAE101 (OAR6), respectivement.

**Tableau 26.** Résultats de l'analyse unimarqueur pour les caractères de résistance comparés à ceux de Moreno (2003); \*\*\* p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05, NS: non significatif; vert: résultats identiques à l'analyse précédente; rouge: marqueur ayant un effet non retrouvé dans cette analyse; bleu: marqueur ayant un effet dans notre analyse mais pas en 2003 ; RM356 et BM6444 sont des marqueurs spécifiques de cette étude.

Marker	OAR	Position	IgM <sub>0</sub>	IgM <sub>7</sub>	Var-IgM	Log-IgG1 <sub>0</sub>	Log-Var-IgG1	Log-BgLN	Log-BgRN	Log-BgS	Log-WtLN	Log-WtRN	Log-WtrS	Log-loss-Wt
BL41	1	121	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
INRA49	1	222	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	NS
BMS1789	1	287	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
BMS2263	1	329	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS
OARCP79	2	156	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ILSTS30	2	177	NS	*	NS	NS	NS	*	**	***	NS	NS	NS	NS
RM356	2	206	NS	*	*	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
BM6444	2	252	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ARO28	2	262	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*
TG23	2	264	NS	*	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CSRD2115	2	288	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
MCM73	4	135	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
OARE129	5	118	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	*	NS	NS
OARAE101	6	50	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	***	NS
ILSTS11	9	40	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
ETH3	11	97	NS	NS	NS	*	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
HUJ614	12	3	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ILSTS59	13	53	*	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	*	*
MAF065	15	47	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
BMS812LS	15	96	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	*	NS	NS
TGLA75	15	103	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
BMS2780	17	40	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	NS	NS
BM8125	17	87	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	*
ILSTS52	18	36	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*
TGLA122	18	89	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
BM1258	20	28	*	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
OLADRB	20	57	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
OARHH56	20	66	NS	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ILSTS19	21	6	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*
BM4005	24	24	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Une liaison entre OAR20 et la concentration en Ig a également été trouvée avec OLADRB et OARHH56, ces deux marqueurs étant associés à log-Var-IgG<sub>1</sub>

Par ailleurs une dernière association forte a été mise en évidence entre log-WtrS et OARAE101 présent sur OAR6.

#### 3.2.3.5. QTL détectés par cartographie d'intervalle

L'analyse a permis la détection de 9 QTL significatifs à l'échelle du chromosome et localisés sur 7 chromosomes (tableau 27).

Parmi ces QTL, trois se trouvent sur OAR20 et ont un effet sur les concentrations d'Ig plasmatiques, étant significatifs pour Log-Var-IgG<sub>1</sub> et Log-IgG<sub>17</sub> (p-value = 0.03 pour les deux) et pour IgM<sub>0</sub> (p-value = 0.02). Si l'on considère l'intervalle de confiance de ces 3 QTL il apparaît que les QTL pour IgM<sub>0</sub> and Log-Var-IgG<sub>1</sub> se trouvent le même intervalle s'étendant de 28 à 66 cM. Le QTL pour Log-IgG<sub>17</sub> est compris dans un intervalle génétique plus restreint entre 39 et 66 cM (tableau 27).

Deux QTL additionnels ont été trouvés pour les comptages bactériens. Un QTL significatif a été identifié à 51 cM sur OAR21 pour log-BgLN (p-value=0,01), tandis qu'un autre QTL (p-value=0,04) a été trouvé sur OAR9 pour log-BgRN. D'après la forte corrélation génétique estimée par Moreno et al. (2003) entre Log-BgRN et Log-BgLN, on aurait pu s'attendre à trouver un QTL contrôlant les deux caractères sur chaque chromosome.

Concernant les caractères de poids, quatre QTL ont été détectés notamment pour le poids de la rate après infection : deux QTL ont été cartographiés sur OAR11 et OAR13, le premier dépassant le seuil de significativité de 0,01% (p-value = 0.0063). Un autre QTL a été identifié pour Log-WtRN sur OAR5 (p-value=0,04), mais là encore rien n'a été trouvé à propos de Log-WtLN, en dépit d'une forte corrélation de 0,89 entre les deux caractères (Moreno *et al.* 2003). Le dernier QTL lié à la perte de poids pendant l'infection a été localisé sur OAR18 à 36 cM (p-value=0,04).

Les valeurs absolues des effets des QTL se trouvent comprises entre 0,76 écart-types phénotypiques pour le QTL pour log-pgd sur OAR5, et 1,05 écart-types phénotypiques pour les deux QTL affectant log-WtrS. Ces QTL ont montré un effet significatif (p<0,05) dans 5 familles en moyenne. Le QTL détecté sur OAR11 a montré un effet significativement différent de 0 (p<0,05) dans trois familles, alors que le QTL pour Log-IgG<sub>17</sub> a un effet significatif dans huit familles.



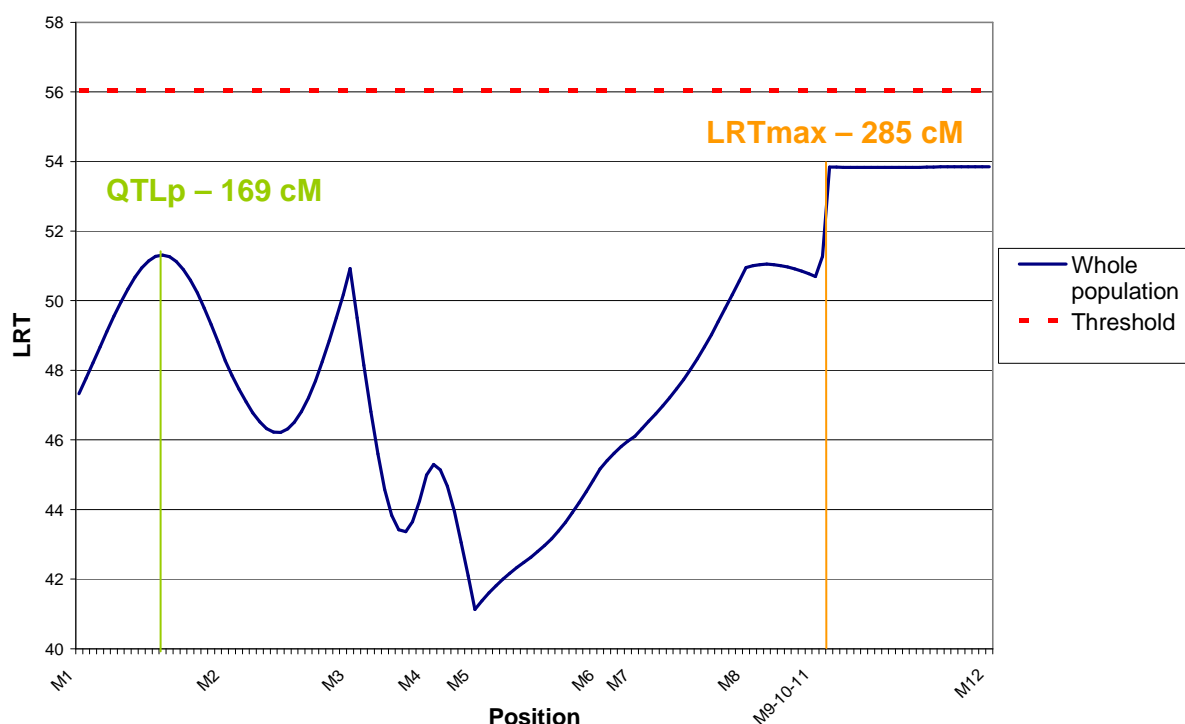
**Tableau 27.** Synthèse des QTL détectés pour la résistance à SAO

OAR	Trait	LRTmax	Position** (cM)	QTL effect (absolute value, in phenotypic standard deviation)	P-value*
5	Log-WtRN	48.3	118 (90-118)	0.76	*
9	Log-BgRN	57.6	38 (27-58)	0.88	*
11	Log-WtrS	64.0	97 (80-97)	1.05	**
13	Log-WtrS	51.5	38 (18-71)	1.05	*
18	Log-lossWt	51.8	36 (36-69)	0.81	*
20	IgM <sub>0</sub>	56.0	38 (28-66)	0.94	*
20	Log-IgG1 <sub>7</sub>	67.3	61 (39-66)	0.92	**
20	Log-Var-IgG1	67.4	60 (29-66)	1.0	**
21	Log-BgLN	58.7	51 (42-54)	0.89	**

*LRTmax* : Value du rapport de vraisemblance à la position du maximum

\*\* L'intervalle de confiance est donné entre parenthèses

La P-value se rapporte à une significativité à l'échelle chromosomique: \*\* < 1%, \* < 5%



**Figure 14.** Profil du rapport de vraisemblance pour la cartographie d'intervalle sur OAR2 pour IgM<sub>7</sub>

De façon surprenante aucun QTL significatif n'a été trouvé sur OAR2, notamment dans la région de *SLC11A1*. Même le QTL trouvé par Moreno (2003) pour IgM<sub>7</sub> à 84 cM de *SLC11A1* n'a atteint que le seuil de 6% à l'échelle du chromosome. Cependant le profil de vraisemblance dans ce cas montre deux maxima locaux pouvant éventuellement correspondre à plusieurs QTL interférant entre eux dans leurs effets (figure 14). Ces deux QTL ségrégeraient alors de façon homogène dans la population.

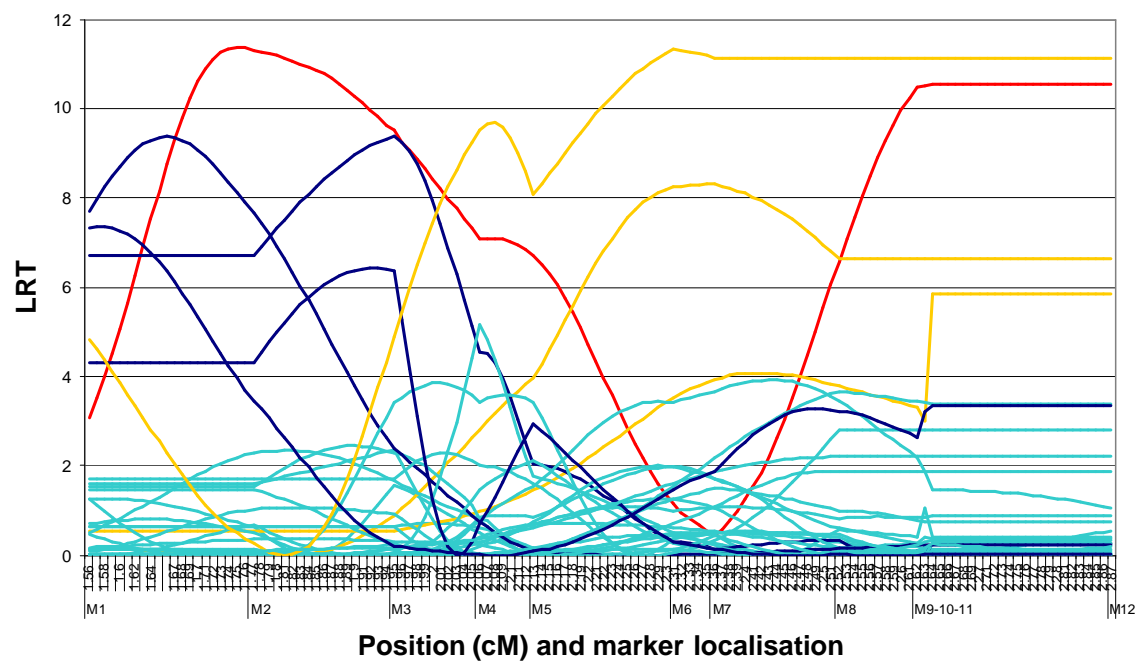
De plus les profils LRT intra-pères peuvent être regroupés en quatre groupes distincts (figure 15). Un premier groupe est composé de pères avec des profils LRT bas, qui n'atteignent pas la valeur de 6 quand le maximum est à plus de 53. Parmi les pères contribuant le plus à la valeur du LRT deux groupes se distinguent : l'un avec un maximum centré sur ILSTS30 vers 180 cM (père 10, 17, 27 et 30), et l'autre groupe (béliers 6, 9, 28) centré autour de 250 cM à l'autre extrémité du groupe de liaison (figure 15). Enfin le bélier 1 présente un profil bimodal, les deux maxima étant dans les régions évoquées. Ces observations sont en accord avec l'hypothèse de deux QTL présents pour IgM<sub>7</sub> sur OAR2 : l'un serait situé vers 180 cM et l'autre vers 250 cM, les deux ségrégeant dans deux groupes de quatre et trois familles respectivement. Les autres familles n'auraient pas de génotypes informatifs à ces loci expliquant ainsi qu'elles ne contribuent pas au LRT.

#### *3.2.3.6. Les autres approches focalisant sur le caractère IgM<sub>7</sub> sur OAR2*

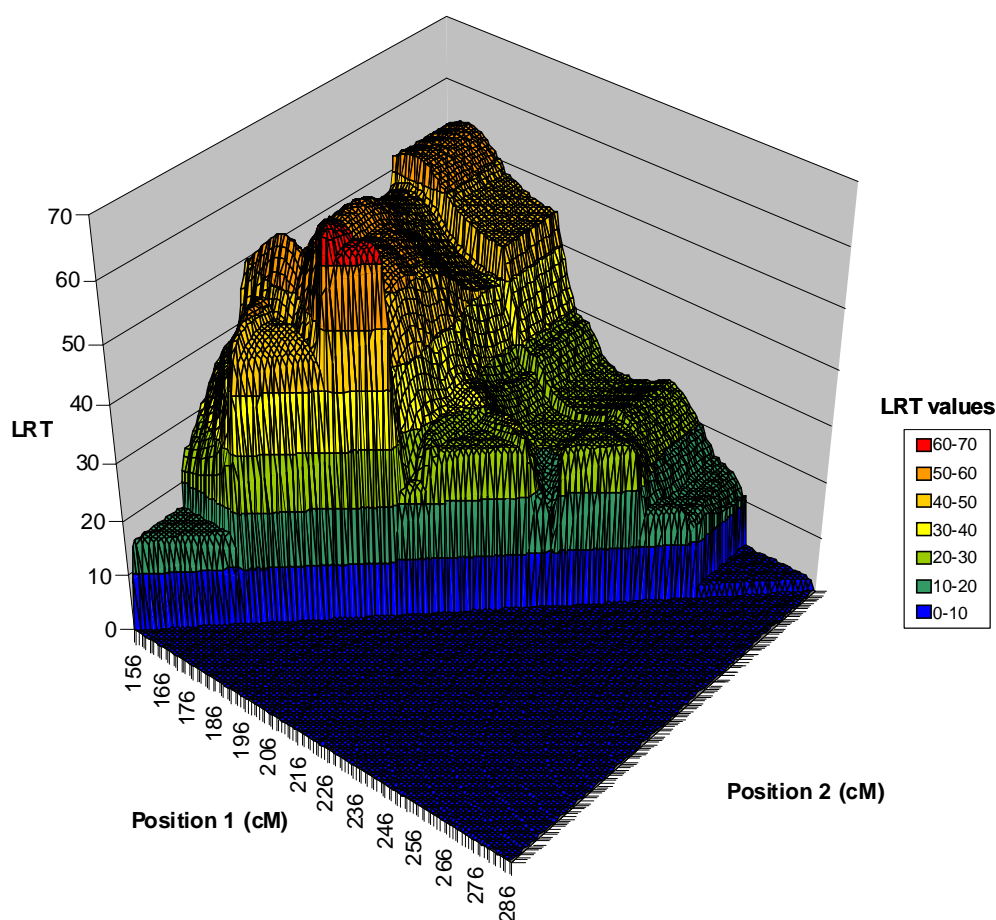
##### *3.2.3.6.1. MIM utilisant l'option bi-QTL de QTLMAP*

Pour tester l'hypothèse de deux QTL présents dans la population pour la résistance à SAO, une analyse bi-QTL sur OAR2 pour IgM<sub>7</sub> a été réalisée.

La première analyse testant l'hypothèse de deux QTL contre celle de l'absence de QTL a été validée de manière significative à 0,1% à l'échelle chromosomique. Le test de la présence de deux QTL au lieu d'un seul a également été validé avec une valeur maximale de LRT atteignant le seuil de 1% à l'échelle du chromosome (figure 16). Cette valeur maximale a été atteinte pour une combinaison de deux QTL à 192 et 199 cM, appartenant donc à deux intervalles de marqueurs contigus (entre ILSTS30 et OARFCB20, et OARFCB20 et RM356 respectivement). Le premier QTL présent à 192 cM a un effet significatif ( $p < 0.001$ ) dans 17 familles de 9,1 écart-types phénotypiques. Le second QTL a un effet moyen de 9,5 écart-types phénotypiques, significatifs dans 11 familles.



**Figure 15.** Profils de LRT intra-pères pour la cartographie d'intervalle sur OAR2 pour IgM7  
(courbes bleu clair: pères à faibles valeurs de LRT; courbes rouges : père1; courbe bleu foncé: père avec un maximum vers 180 cM; courbes jaunes: pères avec un maximum vers 250 cM)



**Figure 16.** Profil LRT de l'analyse bi-QTL (hypothèse 1 vs 2 QTL)

### 3.2.3.6.2. Adaptation du CIM pour la pré-correction des phénotypes par les 3 marqueurs de *SLC11A1*

Supposant que *SLC11A1* a un effet et qu'il pourrait avoir des interactions d'épistasie avec d'autres QTL potentiels présents sur OAR2, les phénotypes ont été corrigés pour l'effet des trois marqueurs localisés dans le gène *SLC11A1* (ARO28, TG13, TG23). Un paramètre composite intra-père basé sur la probabilité d'hériter une phase paternelle donnée de ces 3 marqueurs a été créé. Ce paramètre a été calculé par une analyse QTL pour le caractère IgM7 et pour ces 3 marqueurs seulement. La probabilité pour chaque descendant d'avoir hérité d'une phase paternelle particulière a ainsi été obtenue à partir des fichiers de sortie de QTLMAP. Idéalement cette probabilité prend deux valeurs, 1 ou 0 selon l'allèle de ce marqueur composite hérité du père. Etant donné la structure des données cette probabilité prenait des valeurs comprises entre 0 et 1. Il a donc été décidé de ne garder que les valeurs les plus probables, c'est-à-dire supérieures à 0,90 ou inférieures à 0,10 afin de conserver le plus d'information possible. Pour certains pères, seul un marqueur était informatif parmi les 3 localisés dans le gène. On a donc attribué aléatoirement aux descendants la probabilité 0 ou 1 d'avoir hérité un des deux allèles. Pour 7 pères, aucun marqueur n'était informatif ce qui a conduit à ne plus considérer ces familles. La population considérée pour cette analyse particulière a donc été réduite de 30 à 23 familles, et donc de 1030 à 610 individus.

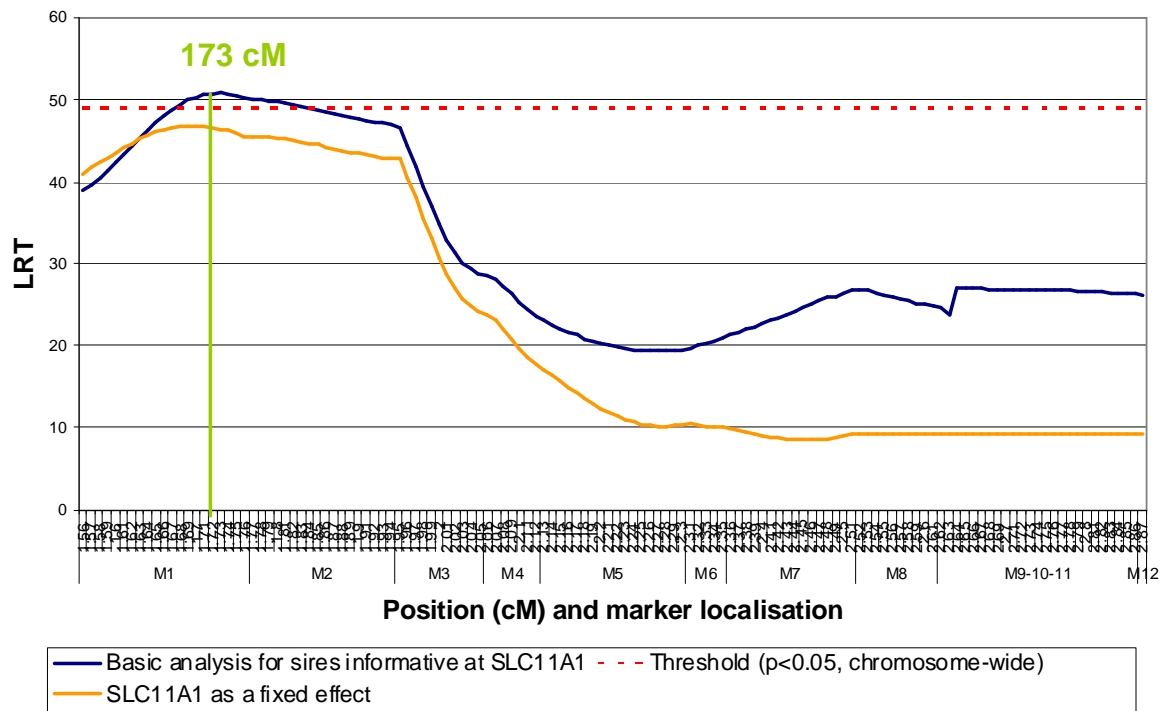
Les phénotypes ont été pré-corrigés pour l'effet de ce marqueur composite considéré comme effet fixe intra-père en utilisant la procédure GLM de SAS (SAS Institute Inc.). Une analyse QTL simple a ensuite été réalisée avec les neuf autres marqueurs présents sur OAR2.

Un maximum de vraisemblance a ainsi été trouvé à 169 cM ce qui correspond au premier maximum local observé dans l'analyse sans pré-correction des données (figure 17). Il faut noter que la valeur de LRT globale dans cette analyse sur la sous-population était plus faible avec des valeurs tombant à 10 (figure 17). Une analyse sans pré-correction pour la même sous-population de 610 individus conduit à peu près au même profil LRT avec un maximum de vraisemblance à 173 cM significatif à 5% à l'échelle du chromosome. Aucune conclusion ne peut par ailleurs être tirée sur ce QTL puisque 7 pères ont été éliminés de l'analyse, ce qui conduit à diminuer le seuil tandis que la valeur du LRT sera peu affectée (ces 7 pères ayant des valeurs de LRT basses autour de 170 cM, voir figure 15). *SLC11A1* ne semble donc pas interférer dans

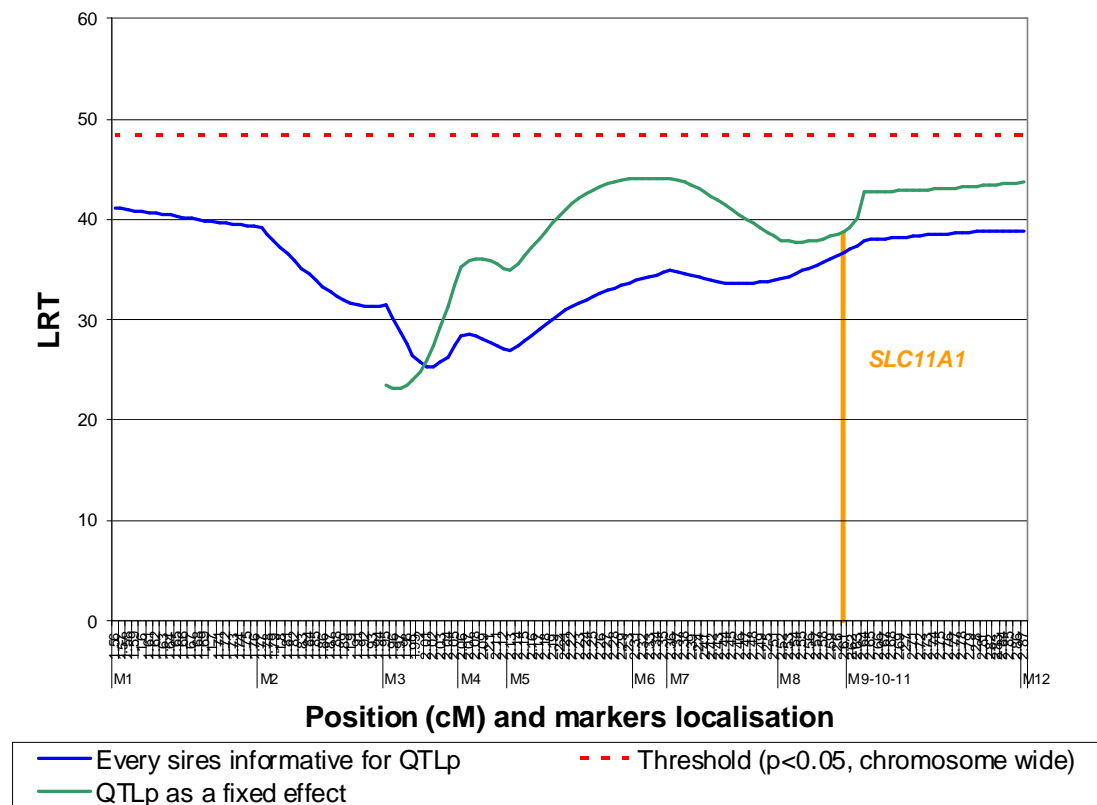
l'analyse QTL puisque les données pré-corrigées pour son effet donnent le même type de résultat.

#### 3.2.3.6.3. Adaptation du CIM pour la pré-correction des phénotypes pour l'effet d'un QTL putatif (QTLp)

Afin de tester l'interférence éventuelle avec le QTL non significatif détecté à 169 cM, dénoté QTLp, le même type d'analyse que celle décrite ci-dessus a été menée en considérant les deux marqueurs flanquant QTLp comme un effet fixe pré-corrigeant les phénotypes. Une première analyse a été réalisée pour IgM7 sur OAR2 sur l'intervalle contenant QTLp, entre OARCP79 et ILSTS30 (figure 2). La probabilité d'hériter cette phase a ainsi été obtenue et utilisée comme un effet fixe intra-père pour corriger les phénotypes. Dans ce cas 4 pères ont été éliminés car n'étant pas informatifs aux deux loci. La valeur de LRT a également diminué en comparaison de l'analyse menée sur les 30 pères (figure 18). De plus l'analyse n'a débuté qu'au marqueur OARFCB20, le premier intervalle de marqueurs étant éliminé pour éviter toute confusion entre les effets fixes et l'estimation de la vraisemblance. Ceci explique le profil de LRT tronqué (figure 18). Là encore le profil LRT obtenu après correction est très semblable à celui sans correction, et n'a pas atteint le seuil de significativité minimum.



**Figure 17.** Comparaison entre les profils LRT obtenus avec pré-correction pour l'effet de SLC11A1 et sans pré-correction sur la même sous-population de 23 pères



**Figure 18.** Comparaison entre les profils LRT obtenus avec pré-correction pour l'effet de QTLp et sans pré-correction sur la même sous-population de 26 pères

### *3.2.4. Discussion*

#### *3.2.4.1. Différences obtenues entre l'étude de 2003 et cette étude avec 6 marqueurs additionnels*

Dans cette étude réalisée en 2009, la plupart des résultats obtenus par Moreno en 2003 ont été confirmés. Les différences observées dans l'analyse unimarqueur sont certainement dues à des changements mineurs dans la façon de corriger les données. En effet les différences observées entre les deux études concernent des marqueurs dont l'effet était en limite de significativité.

Concernant les résultats de l'analyse QTL, six QTL ont été trouvés identiques entre les deux études. Parmi ceux-là, trois des quatre QTL cartographiés avec une significativité de 1% à l'échelle du chromosome en 2003 ont été retrouvés aux mêmes localisations (tableau 28). Le dernier de ces 4 QTL avait été localisé sur OAR4 pour Log-WtrS. Il est très probable que la mise à jour de la carte génétique ovine résultant du déplacement d'OARAE101 de OAR4 sur OAR6 a eu un effet sur l'analyse QTL. En effet ce marqueur était fortement associé à Log-WtrS (tableau 28). Dans notre analyse ce marqueur était seul sur OAR6 et n'a donc plus été détecté. Les autres variations observées concernent des QTL en limite de significativité (tableau 28) que l'on peut raccorder à la façon de corriger les données.

#### *3.2.4.2. Limites de l'analyse unimarqueur*

La première analyse a identifié 3 marqueurs ayant un effet fort avec les caractères de résistance, notamment Log\_BgS and Log-Var-IgG1 (tableau 26). Un tel résultat est intéressant mais ne peut confirmer/infirmier la présence d'un QTL, comme l'atteste le contraste entre les neuf QTL détectés et 47 couples de caractère-marqueur trouvés en association (tableau 26). En effet une des hypothèses de cette analyse est que le QTL supposé est localisé au marqueur. Plus le QTL, d'effet  $a$ , sera éloigné du marqueur (distance  $d$ ), plus son effet apparent défini par  $b = a(1-2d)$  diminue. Il faut donc plus de descendants pour mettre en évidence un effet significatif au QTL (Moreno 2003). Au contraire, des faux positifs sont très probables étant donné que la significativité de l'effet est calculé indépendamment pour chaque test. Selon Lander & Kruglyak (1995), une p-value globale correspondant au seuil visé divisé par le nombre de tests devrait être calculée. Cependant étant donné la liaison génétique existante entre les marqueurs du même chromosome et les corrélations entre les caractères, les tests ne sont pas indépendants et il est difficile d'établir une p-value globale.

**Tableau 28.** Comparaison des analyses de 2003 et 2009*(Les lignes jaunes correspondent aux QTL identifiées dans les deux analyses)*

QTL		2003 mapping	2009 mapping
Trait	OAR	(55: position in cM; - : not detected)	(60: position in cM; - : not detected)
Log-IgG1 <sub>7</sub>	20	55	61
Log-Var-IgG1	20	52	60
IgM0	20	-	38
IgM0	9	37	-
IgM7	2	166	-
Log-BgLN	21	51	51
Log-BgRN	9	-	38
Log-WtRN	15	61	-
	5	-	118
Log-WtrS	11	100	97
	13	37	38
	4	46	-
Log-lossWt	18	36	36

#### 3.2.4.3. Le CMH détecté comme ayant un effet sur la résistance à SAO

De façon intéressante les localisations des QTL trouvés sur OAR20 l'ont été à proximité du CMH de classe IIa, les deux groupes de QTL flanquant *DQA2*, *DQA1* and *DRB1* (Dukkipati *et al.* 2006; Maddox & Cockett 2007). Il est donc fortement probable que le CMH joue un rôle dans la sensibilité à SAO.

Comme on l'a évoqué, ce résultat est en accord avec l'association trouvée chez la souris entre le CMH et l'infection par *Salmonella typhimurium* (Wigley 2004). De plus il a également été montré que le CMH de classe I avait un effet sur la contamination splénique par *Salmonella enteritidis* chez le poulet (Lamont *et al.* 2002; Liu *et al.* 2002). D'un point de vue plus général, l'effet du CMH sur la résistance aux maladies a largement été étudié et démontré dans la plupart des espèces animales (Rothschild *et al.* 2000). Ce résultat n'est donc pas surprenant. En effet les molécules du CMH sont dédiées à la présentation d'antigènes aux lymphocytes T (voir partie 1). Cependant il reste à démontrer que la mutation causale se situe à l'un des loci du CMH.



Jusqu'à présent la seule utilisation d'allèles du CMH dans un programme de sélection a été faite dans le cadre de la sélection pour la résistance à la maladie de Marek chez le poulet (Rothschild *et al.* 2000). Si l'association est confirmée chez le mouton, on pourrait sélectionner des animaux ayant une forte réponse immunitaire. Cependant cette utilisation est largement dépendante de l'élucidation des mécanismes sous-jacents. En effet des effets délétères sont probables et on peut de plus s'interroger sur les conséquences de la fixation des allèles du CMH, locus caractérisé par son important polymorphisme. Cette dernière caractéristique fait d'ailleurs l'objet de controverses, certains pensant qu'elle est un avantage de l'hôte sur le pathogène, en lui permettant de reconnaître plus d'antigènes. Cependant une étude récente a montré que même si les individus hétérozygotes au CMH étaient plus résistants que les homozygotes en moyenne, ils n'étaient pas plus résistants que le plus résistants des homozygotes (Penn *et al.* 2002).

#### *3.2.4.4.SLC11A1 ne semble pas avoir d'effet sur la résistance à SAO chez le mouton*

##### *3.2.4.4.1. L'hypothèse d'un QTL n'a pas pu être validée*

De façon surprenante aucun QTL n'a été détecté au locus de *SLC11A1* et aucun QTL n'a été mis en évidence sur OAR2 (tableau 27).

Il est possible que ce gène n'ait pas d'effet dans la population expérimentale, ou que son effet ne soit pas suffisamment important pour être détecté. Ceci serait en contradiction avec ce qui a été trouvé dans d'autres espèces comme la souris et le poulet (Wigley 2004). Cependant il est également possible que la population considérée ne permette pas la détection de QTL à ce locus précis. Par exemple, un QTL pourrait ségréger dans des familles de taille limitée ne fournissant pas assez d'informations pour une détection significative. Il est également possible que les agneaux de race Romane ne présentent pas de polymorphismes à ce locus. Un bon moyen de confirmer ce point serait de séquencer chaque père de façon à déterminer la présence de polymorphisme dans le gène.

Il est cependant difficile de conclure que *SLC11A1* n'a pas d'effet sur la résistance à SAO chez les agneaux de race Romane. En effet les résultats obtenus peuvent être dus à une information moléculaire pauvre pour les marqueurs de *SLC11A1*. En effet des erreurs dans l'extraction d'ADN ont conduit à sa dégradation et à une mauvaise résolution du génotypage. En conséquence, 50%, 67% et 30% des génotypes de ARO28, TG13 et TG23 respectivement n'ont pas pu être déterminés.

#### 3.2.4.4.2. Test de l'hypothèse de deux QTL présents

Une des limites de la cartographie d'intervalle uni-QTL est l'impossibilité de distinguer plusieurs QTL liés. Cela peut conduire à la non détection d'un QTL ou à mal le localiser (Zeng 1994). Dans cette étude, *SLC11A1* était un candidat fort. Les résultats de Moreno (2003) laissaient par ailleurs penser qu'un QTL pour IgM7 était présent à 84 cM de *SLC11A1* entre 160 et 170 cM. De plus l'analyse uni-QTL pour IgM7 sur OAR2 présentait un profil LRT bimodal avec un maximum local à 169 cM supposé être un QTL putatif (QTLp). Enfin les profils intra-pères pouvaient être regroupés en deux groupes ayant leur maximum à 170 cM et 250 cM respectivement.

La première étape pour tester l'hypothèse de 2 QTL a été de mener une analyse bi-QTL. Cette hypothèse a été validée et deux QTL ont été localisés à 192 et 199 cM. Dans ce cas il n'est pas possible de conclure quant à leurs positions réelles. En effet l'intervalle de 7 cM entre eux est trop restreint. Les auteurs s'accordent sur un minimum de 25 cM et/ou d'au moins deux marqueurs entre les 2 QTL pour pouvoir conclure (Gilbert 2003). Ce cas particulier atteint donc les limites de la méthodologie actuelle. Dans ce cas il est probable que la vraisemblance soit maximale à ces deux positions étant donné sa situation moyenne entre les deux maxima locaux trouvés en uni-QTL.

Pour aller plus loin dans l'étude de l'hypothèse de deux QTL, une adaptation de l'approche CIM pré-corrigeant les données pour l'effet de *SLC11A1* et l'effet de QTLp a été réalisée. Par ailleurs cette approche était plus pertinente étant donné l'hypothèse de travail où *SLC11A1* était supposé avoir un effet majeur sur la résistance à SAO. Cependant aucune des deux pré-corrections réalisées n'a permis de détecter un QTL ailleurs sur OAR2. L'interaction éventuelle de *SLC11A1* avec un autre QTL situé autour de 169 cM peut donc être rejetée.

On pourrait objecter que cette adaptation du CIM était incomplète étant donné que l'effet des autres marqueurs n'a pas été pris en compte, notamment l'effet d'OARFCB20 (associé en unimarqueur et lié à un maximum local sur le profil LRT) dans le cas de la pré-correction pour QTLp. Cependant QTLp et OARFCB20 étaient supposés suffisamment proches pour ne corriger les données que pour QTLp. De plus cela a permis de conserver plus d'information : il aurait fallu éliminer des familles supplémentaires non informatives pour OARFCB20. De cette analyse croisée on peut

donc conclure que le profil LRT uni-QTL n'est pas lié à une interaction entre deux QTL putatifs situés à 169 cM et au locus de *SLC11A1*.

L'hypothèse d'un QTL et de *SLC11A1* ayant un effet pour IgM7 est donc rejetée car les deux QTL détectés en analyse bi-QTL ne peuvent être localisés précisément. Il est toujours possible que deux QTL soient présents sur OAR2, mais *SLC11A1* n'est probablement pas l'un d'eux. Une autre piste de recherche pourrait être de considérer des effets d'épistasie dans le modèle de détection de QTL.

#### 3.2.4.4.3. D'autres explications possibles

L'absence d'effet de *SLC11A1* sur la résistance à SAO n'était pas un résultat attendu étant donné son rôle majeur dans d'autres espèces. Cependant le concept de candidat fonctionnel ne s'applique pas toujours. Par exemple la sensibilité liée à PrP dans le cadre des ESST n'est pas pas parfaitement identique entre les ovins et les bovins, même si ces deux genres sont génétiquement proches (Hunter 2000).

Considérant le protocole expérimental, l'absence d'effet de *SLC11A1* pourrait être liée à l'utilisation d'une souche vaccinale de SAO. L'utilisation de cette souche Rv6 avait été motivée par la facilité d'utilisation dans le cadre d'une infection à grande échelle. L'utilisation d'une souche virulente pourrait accentuer les différences entre individus résistants et sensibles, offrant ainsi une meilleure résolution de l'analyse QTL. Cependant l'effet de *SLC11A1* était suffisamment important chez la souris pour pouvoir être validé dans le cadre d'une infection intraveineuse par la souche Rv6 (Gautier *et al.* 1998). On pensait donc pouvoir transposer ces résultats au mouton. Il avait de plus été démontré que la voie d'infection influençait la réponse immunitaire puisque seule la souche virulente 15/5 était capable de disséminer après injection sous-cutanée (Gohin *et al.* 1997). L'injection intraveineuse dans ce protocole assurait la contamination systémique.

Par ailleurs il a récemment été démontré que *SLC11A1* était associé à une persistance plus longue de *Salmonella enteritidis* chez la souris (Caron *et al.* 2002). Les auteurs ont montré que les souris porteuses de l'allèle « résistant », c'est-à-dire associé à des contaminations spléniques plus faibles, restaient contaminées plus longtemps que les souris sensibles. Ce résultat surprenant illustre bien la difficulté d'élucider les mécanismes en jeu dans la résistance aux pathogènes.

#### 3.2.4.5.A propos des autres QTL

Un premier QTL a été identifié pour les comptages bactériens dans le nœud lymphatique préscapulaire gauche sur OAR21 et un autre pour le comptage bactérien dans le nœud lymphatique contro-latéral sur OAR9 (tableau 27). Étant donné la corrélation génétique de 0,93 entre Log-BgRN et Log-BgLN estimée par Moreno et al. (2003), on aurait pu s'attendre à trouver un QTL pour les deux caractères sur chaque chromosome. Ce résultat peut s'expliquer par la répartition de la variance génétique pour les deux caractères. En effet il est probable qu'un nombre important de gènes communs contrôlent ces caractères, expliquant la corrélation génétique, alors que quelques QTL sont présents et spécifiques de chaque caractère. Ces caractères restent cependant particulièrement difficile à analyser étant donné la proportion importante de valeurs nulles qui rendent la distribution asymétrique et impacte la puissance de détection des QTL (Tilquin *et al.* 2005). Même l'utilisation d'un modèle à seuil n'a pas permis d'obtenir de meilleurs résultats (Moreno, communication personnelle). Ce problème reste à solutionner étant donné que ce genre de caractère correspond le mieux au but à atteindre qui est l'absence de pathogène dans l'organisme. De plus, c'est sur ce caractère qu'est basé le rôle majeur de *SCL11A1* (Vidal et al. 1995). Cependant le comptage de pathogènes rencontrera toujours le problème de la différenciation entre l'absence réelle de pathogène et un faux négatif. Les régions identifiées pour ces caractères ne correspondent pas, d'après la littérature, à des gènes candidats connus.

Quatre QTL ont été détecté pour les poids de la rate et des noeuds lymphatiques. Parmi ceux-là, trois ont été trouvés pour log-WtrS. Ces caractères sont des indicateurs indirects de l'infection par SAO. En effet durant l'infection, les bactéries passent de la lumière intestinale à la circulation lymphatique efférente par l'intermédiaire des plaques de Peyer et des nœuds lymphatiques mésentériques. Cela résulte en une bactériémie transitoire généralement résolue dans la rate et le foie et qui conduit notamment à une augmentation du poids de la rate (Mittrucker & Kaufmann 2000). Cette splénomégalie est par ailleurs significativement réduite chez les souris porteuses de l'allèle de résistance au locus de *SLC11A1* (Gautier *et al.* 1998). De plus, les mesures sur les nœuds lymphatiques attestaient de l'absence d'une éventuelle réponse immunitaire locale due à une mauvaise injection. Cependant ces caractères doivent être adaptés de façon à pouvoir être utilisés dans les schémas classiques de sélection étant donné leurs caractères invasifs. Le QTL trouvé pour log-lossWt est certainement relié à des gènes de résilience à *Salmonella*, les allèles favorables leur permettant de maintenir leur poids malgré l'infection. Cependant dans le cadre de cette

étude, la résilience n'est pas l'objectif souhaité étant donné que les porteurs asymptomatiques de SAO peuvent conduire à l'infection d'autres femelles.

#### 3.2.4.6. Pour de futures analyses

##### 3.2.4.6.1. Génotypage de marqueurs supplémentaires

Quelques régions sont restées largement inexplorées dans cette analyse. Quatre chromosomes n'avaient pas de marqueur tandis que cinq autres ne disposaient que d'un unique marqueur génotypé. Pour OAR5 et OAR12, les deux marqueurs à disposition se trouvaient à 100cM l'un de l'autre, intervalle bien trop grand pour une cartographie d'intervalle.

Pour gagner en précision, il serait judicieux d'utiliser des marqueurs de type SNP. En effet plus le nombre de marqueurs est important plus il est probable que certains soient en déséquilibre de liaison avec un QTL. Les puces SNP actuellement à disposition comprennent 60 000 marqueurs. Un génotypage sélectif basé sur la plus ou moins grande sensibilité des moutons à l'infection par SAO pourrait être réalisé, ce qui optimiserait les analyses de détection de QTL. Les index estimés gagneront également en précision.

##### 3.2.4.6.2. TLR4 comme autre candidat ?

Des études ont associé la variation allélique au locus de *TLR4* avec la résistance à *Salmonella typhimurium* chez le poulet et la souris (Leveque *et al.* 2003; Wigley 2004). *TLR4*, abréviation de Toll-Like Receptor 4, code pour une molécule de reconnaissance d'antigènes. Cette molécule est impliquée dans la reconnaissance de ligands viraux et de bactéries gram négatives lors de la réponse immune innée (Janssens & Beyaert 2003).

##### 3.2.4.6.3. Etude d'expression

Les pathogènes sont des entités vivantes qui se développent dans leurs hôtes, réagissent à leurs défenses et essaient de s'y soustraire. Par exemple la membrane des salmonelles porte un capteur en deux parties appelé PhoPQ. Dans des conditions environnementales particulières la kinase PhoQ de ce capteur active PhoP par phosphorylation. Cela induit une modulation de l'expression de gènes cibles permettant de résister aux défenses de l'hôte (Hancock & McPhee 2005).

Une meilleure compréhension des interactions à l'œuvre entre le pathogène et son hôte sont donc requises. Les études d'expression de gènes sont un outil adapté pour cette tâche. Par exemple (Bader *et al.* 2005) ont démontré que des peptides antimicrobiens stimulaient

l'expression génique contrôlée par PhoPQ. Des études plus poussées leur ont permis de montrer que *Salmonella* utilise ces peptides pour activer son propre système de défense. Un autre résultat intrigant a été trouvé sur le rôle du transporteur SLC11A1 (Zaharik *et al.* 2002). En effet les auteurs ont mis en évidence que ce transporteur activait des gènes requis pour la survie bactérienne à l'intérieur des macrophages.

Les études d'expression génique permettent également une étude dynamique de l'infection d'un point de vue génétique et aident ainsi à déterminer des candidats potentiels. Par exemple il a été montré que l'expression d'*IFN- $\gamma$*  était réprimée chez les poulets sensibles à la colonisation par *Salmonella enteritidis* (Sadeyen *et al.* 2004).

#### 3.2.4.6.4. Analyse multicaractères

Les études classiques de détection de QTL reposent sur la mesure de caractères d'intérêt. Cependant les analyses statistiques mises en œuvre sont en général effectuées caractère par caractère, sans considérer d'éventuels effets de pléiotropie bien que les caractères soient souvent corrélés. Par exemple, des études laissent penser que *SLC11A1* a de nombreux effets pléiotropiques sur le transport de cations (Blackwell *et al.* 2001). L'application d'une méthodologie multi-caractère à nos données pourrait améliorer la précision et la puissance de l'analyse.

Plusieurs méthodes ont été proposées et ont été comparées par Gilbert & Le Roy (2002). La façon la plus simple de faire est d'appliquer une analyse multivariée en intégrant une fonction multinormale dans l'expression de la vraisemblance. Cette méthode est cependant handicapée par le nombre important de paramètres à estimer. Weller *et al.* (1996) ont proposé de ne seulement analyser qu'une combinaison linéaire des caractères pour résumer l'information. Cela peut être fait par une analyse en composante principale sur les covariances phénotypiques ou une analyse discriminante, cette dernière étant généralement plus puissante et plus précise. Cependant les effets estimés obtenus avec ces deux dernières méthodes ne peuvent pas être directement transformés en effet du QTL pour chaque caractère (Gilbert & Le Roy 2003).

## 4. Partie 4. Sélectionner des animaux résistants aux maladies: possibilités et défis

Cette dernière partie aborde les possibilités d'applications pratiques des résultats obtenus dans les protocoles de recherche, et se centrera sur les défis de la sélection pour les résistances aux maladies.

### 4.1. La sélection classique pour la résistance aux strongles et aux mammites

Les critères de résistance à ces deux grandes pathologies sont modérément héréditaires ce qui a permis la mise en place de programme de sélection dont les résultats sont brièvement discutés.

#### 4.1.1. *Vérifications à faire*

L'ajout d'un caractère de résistance à un pathogène dans un schéma de sélection requiert des vérifications.

Premièrement, ces caractères doivent être pertinents pour être employés comme critères de sélection. Dans le cas de la résistance aux nématodes, le FEC reste un caractère facile à mettre en œuvre et peu coûteux (Woolaston & Baker 1996), tandis que les CCS sont utilisés dans le cadre de la résistance aux mammites (Rupp 2002).

Deuxièmement, il est nécessaire de sélectionner des animaux qui ne seront pas susceptibles à d'autres maladies. Dans le cas de l'infestation par des nématodes, Gruner et al. (2004) ont montré une corrélation génétique approchant 1 entre les résistances à *H. contortus* et *T. colubriformis*, comme l'ont fait Bishop et al. (2004) pour l'infestation par des strongles et *Nematodirus spp.* (corrélations génétiques comprises entre 0,38 et 0,95). Concernant les mammites, une étude récente entre deux lignées divergentes a montré que les brebis sélectionnées pour des CCS faibles ne présentaient pas un risque plus élevé de développer une mammite clinique mais étaient moins susceptibles de déclarer une mammite clinique (Rupp 2008). Cependant les connaissances actuelles sont insuffisantes pour caractériser les relations qui peuvent exister dans les résistances à plusieurs maladies.

Troisièmement, les corrélations génétiques avec les caractères de production ne doivent pas être trop défavorables. Cependant ces corrélations ne sont univoques. Pour la résistance aux mammites, une corrélation génétique défavorable a été estimée par Barillet et al. (2001), mais certains auteurs rapportent des corrélations favorables (Bergonier *et al.* 2003).

En ce qui concerne la résistance aux nématodes, la situation n'est pas claire avec des corrélations estimées variant différemment en fonction des situations géographiques comme évoqué dans l'illustration du modèle polygénique (partie 3).

Le dernier point à prendre en compte est le bénéfice économique imputable au schéma de sélection. Il sera difficile de proposer un schéma de sélection pour la résistance à une maladie si d'autres moyens de contrôle sont disponibles et efficaces (Stear *et al.* 2001).

#### 4.1.2. Résultats de sélection

Rupp *et al.* (2008) ont mis en place une sélection divergente sur une génération de brebis laitières Lacaune basée sur des index CCS de brebis. Ce protocole a abouti à une différence de 1,69 unité CCS ce qui représente 3,2 écart-types génétiques. Etant donné l'association avec un risque réduit de développer une mammite clinique on peut avancer que cette sélection a un impact favorable. Enfin, les lignées à faibles CCS ont montré une meilleure résistance en réduisant l'incidence et la durée des processus inflammatoires.

Dans une étude terrain, Bisset *et al.* (1997) ont suivi l'évolution d'une population de nématodes chez des agneaux sélectionnés pour la résistance ou la susceptibilité à l'infestation par des vers. Ils ont montré une excrétion d'œufs 50 fois plus forte chez les sensibles et 5 fois moins de larves infestantes chez les résistants. Ces résultats ont également été confirmés pour les infestations à *T.colubriformis* et *O.circumcincta* par Gruner *et al.* (2003), qui ont également mis en lumière les bénéfices corrélés de la réduction du nombre d'*H. contortus*. De plus Bisset *et al.* (1997) ont démontré que des agneaux résistants et sensibles placés sur les mêmes pâtures ne montrent pas de différences dans leur croissance, alors que l'avantage est significatif sur des pâtures séparées. Ce modèle a également été observé pour le poids de la laine. Liu *et al.* (2005) ont montré que des animaux résistants répondaient rapidement et fortement à une infestation mais récupéraient plus rapidement. Enfin le gain économique annuel induit par un programme de sélection a été estimé entre 2,0 et 5,1% du gain génétique (Gicheha M.G. 2007).

#### 4.2. Sélection assistée par gène (SAG): sélection pour la résistance à la tremblante

Basée sur la revue bibliographique de Dawson *et al.* (2008), ce paragraphe discute les avantages et les inconvénients de la sélection pour un gène majeur en prenant l'exemple de la sélection contre la tremblante. Ce cas reste le meilleur exemple même si un test commercial pour un marqueur moléculaire de résistance au piétain est disponible et pourrait s'inscrire dans ce paragraphe (Dodds 2007).



Le schéma de sélection mais également la police sanitaire et la certification zootechnique sont basées sur le génotypage des animaux pour le gène PrP de façon à augmenter la fréquence de « l'allèle résistant », ARR, et d'éliminer « l'allèle très sensible », VRQ. Concentrer l'objectif de sélection sur un caractère augmentera l'intensité de sélection et donc la réponse (Falconer & Mackay 1996). C'est pourquoi aucun effet délétère sur les caractères de production ne doit être associé au gène *PrP* ou aux gènes situés dans son voisinage. Vitezica et al. (2006) ont cherché les relations entre *PrP* et les caractères de production et de reproduction et ont conclu à l'absence d'effet de *PrP* sur ces caractères. De plus Sweeney & Hanrahan (2008) ont rapporté l'absence d'effet avec la production laitière et ont édité une liste de gènes potentiellement en liaison avec *PrP* avec, cependant, une phase de liaison a priori différente entre les populations. Un autre effet défavorable de la concentration de l'effort de sélection sur un seul gène pourrait être de réduire la pression de sélection pour les autres critères de production. Par ailleurs un tel programme de sélection pourrait également induire une perte énorme de diversité génétique et une augmentation de la consanguinité. Cet aspect a été étudié par Palhière et al. (2008) qui n'ont pas trouvé de signes alarmants pour ces deux possibilités et qui ont même suggéré que cette sélection avait été bénéfique à certaines races en permettant de mieux structurer les schémas de sélection. Grâce à cette SAG il apparaît donc que la tremblante se trouve sous contrôle, même s'il est difficile de garantir une éradication totale étant donné que les connaissances à propos du prion sont loin d'être complètes.

Une autre utilisation possible de marqueurs génétiques à des fins de sélection peut être l'introggression de gènes assistée par marqueurs, basée sur des backcross multi-générationnels de façon à introduire le gène d'une population dans une autre population. Cette approche a été réalisée pour le gène Booroola dans certaines races laitières, mais reste seulement une option chez les bovins (Dekkers 2004).

Une autre approche basée sur le déterminisme monogénique est l'utilisation d'animaux transgéniques. Cette technologie a fourni des résultats intéressants comme l'introduction d'une enzyme offrant une résistance aux myases (chitinase) chez le mouton ou bien des stratégies d'immunisation basée sur l'ADN (Müller 1996; Laible 2008). Bien que les organismes génétiquement modifiés offrent des solutions potentielles très intéressantes, leur mise en œuvre ne sera effective qu'après règlement des problèmes éthiques et réglementaires, en parallèle de l'acceptation par le consommateur (Müller 1996; Laible 2008).

#### 4.3. Utilisation de marqueurs moléculaires en sélection dans la filière ovine

Après avoir détecté des QTL affectant des caractères d'intérêt, il peut être intéressant d'augmenter leurs fréquences dans une population en utilisant les fondateurs de génotypes connus. En utilisant cette approche de Sélection Assistée par Marqueurs (SAM), il est alors possible de tracer les allèles favorables et défavorables à l'intérieur d'un pedigree en utilisant les marqueurs flanquant les QTL. L'intérêt offert par la SAM est gouverné par quatre facteurs : le gain de précision que l'information moléculaire apporte, la proportion de variance génétique expliquée par les marqueurs, la précision avec laquelle les effets des QTL sont estimés, et la possibilité de réduire l'intervalle de génération (Goddard & Hayes 2007). Même si l'augmentation de gain génétique a été estimée entre 8 et 38% (Meuwissen *et al.* 2001), la SAM ne suscitait pas jusqu'à présent l'intérêt de la filière ovine dans la mesure où les bénéfices attendus ne dépasseraient probablement pas les coûts impliqués : récolte des ADN, génotypage et analyse (Dodds 2007).

L'arrivée des puces pangénomiques à très haute densité pourrait changer cette tendance en offrant un volume d'information moléculaire important à des coûts modérés: la puce ovine actuelle propose 60000 marqueurs. Deux voies d'utilisation de cette information moléculaire à haute densité sont envisageables : la SAM2 ou la sélection génomique.

##### 4.3.1. La SAM2

Cette méthode s'appuie sur la localisation de QTL. Plus le nombre de marqueurs est important, plus il est probable qu'ils soient en déséquilibre de liaison avec d'éventuels QTL. Disposer de plusieurs milliers de SNP peut ainsi permettre l'identification d'un plus grand nombre de QTL. Après avoir identifié un SNP associé à un QTL, il est possible d'estimer son effet ; la valeur génétique de l'individu peut alors être déterminée en combinant les informations phénotypique, généalogique et moléculaire (Goddard & Hayes 2009). Une fois ces index déterminés pour une population d'étude, il est alors possible d'évaluer les candidats à la sélection sur leur seule information moléculaire, les effets des allèles aux marqueurs étant valable à l'échelle de la population car les marqueurs et les QTL sont en déséquilibre de liaison. Cependant la SAM2 ne considère qu'un nombre restreint de QTL suivis par des marqueurs en association. Or les caractères d'intérêt en sélection sont gouvernés par un nombre important de gènes. Ne considérer que quelques QTL n'expliquera donc qu'une part limitée de la variance génétique. De plus ces gènes pris individuellement

n'ont qu'un effet modéré à faible dont l'estimation requiert une quantité massive d'informations (Goddard & Hayes 2007).

#### 4.3.2. La sélection génomique

A la différence de la SAM, la sélection génomique proposée par Meuwissen et al. (2001) utilise l'information moléculaire dans sa globalité, à l'échelle du génome entier, sans chercher préalablement à identifier des QTL (Goddard & Hayes 2009). Cette sélection repose sur l'estimation d'index génomiques ou genomic estimated breeding values (GEBV) dans une population de référence dont les phénotypes et les génotypes sont connus. Pour cela les effets de chaque marqueur sur le phénotype sont estimés et ajoutés les uns aux autres. Une équation prédictive du GEBV est ainsi obtenue qui prend en compte tous les loci contribuant à la variation génétique, même si les effets de certains loci sont très faibles (Hayes *et al.* 2009). L'équation obtenue pour l'estimation des GEBV peut alors être utilisée pour n'importe quel candidat à la sélection de la population à partir de son génotype seul.

Les résultats de simulation ont montré que la corrélation entre les GEBVs et l'EBV réelle était de 0,85 (Meuwissen *et al.* 2001). Les résultats obtenus à partir de données réelles n'atteignent pas ce niveau mais restent à des niveaux très raisonnables (Goddard & Hayes 2009).

Deux défis majeurs restent à relever pour cette méthodologie. Le premier concerne la constitution de la population de référence. Le nombre d'animaux requis augmente quand l'héritabilité du caractère diminue ou quand la taille efficace de la population (nombre d'individus d'une population sans sélection ni schéma d'accouplement qui conduirait à la même consanguinité que celle de la population observée) augmente : 6700 taureaux ont été nécessaires au US Department of Agriculture pour obtenir une précision de GEBV de 0,8 (Goddard & Hayes 2009). Le second défi concerne le calcul d'une équation de prédiction génomique dans plusieurs races qui conduit à augmenter à la fois la taille de la population de référence et le nombre de SNP génotypés puisque le déséquilibre de liaison est plus faible entre races.

#### 4.3.3. Intérêts de l'utilisation des marqueurs moléculaires

Même si la SAM2 et la sélection génomique ont été évoquées séparément, la distinction entre les deux reste mince. En effet les marqueurs utilisés en sélection génomique

sont pré-sélectionnés et validés avant utilisation ce qui revient à un concept de SAM2, tandis qu'une SAM2 utilisant un nombre élevé de QTL tend vers la sélection génomique.

Par ailleurs dans les deux cas les avantages sont les mêmes. Une fois la population de référence constituée, on est en mesure de prédire directement la valeur génétique d'un animal par son seul génotype. Le programme de sélection gagne ainsi en précision et en rapidité puisqu'il n'est plus nécessaire de tester les descendants d'un père pour pouvoir indexer celui-ci. Cela prend tout son sens dans le cadre de la sélection pour la résistance à des maladies contagieuses (fièvre aphteuse) ou ayant un temps d'incubation très long (paratuberculose). Cependant il est toujours nécessaire de disposer d'une population de base phénotypée et génotypée suffisamment fournie pour produire des estimations précises (Bidanel 2008). Le phénotypage de cette population de base pour la résistance à des pathologies hautement pathogènes, voire zoonotiques peut s'avérer alors problématique à mettre en œuvre car requérant des infrastructures spécifiques. L'investissement représenté par ces infrastructures est alors à mettre en balance avec le statut sanitaire de qualité acquis par la suite pour l'ensemble de la population à la simple lecture du génotype.

#### 4.4. Questions à propos de la mise au point d'animaux résistants

Sélectionner pour la résistance aux maladies n'implique pas seulement des aspects génétiques mais repose également sur l'épidémiologie, outil indispensable pour la surveillance et l'optimisation de la sélection.

##### *4.4.1. Comment utiliser la génétique pour obtenir des animaux génétiquement résistants?*

Dans l'absolu il serait idéal de sélectionner des "super-moutons" qui ne souffriraient plus d'aucune maladie et maintiendraient un niveau de production constant.

Pour parvenir à la réalisation de ce rêve, on peut mettre en place des programmes de sélection visant à augmenter la réponse immunitaire globale. Par exemple il pourrait être possible d'augmenter la production d'Ig durant une infection par un pathogène extracellulaire ou d'optimiser les mécanismes de présentation d'antigènes. Il semble par ailleurs logique d'augmenter l'épaisseur de la peau pour prévenir les piqures d'insectes responsables de transmission de maladies vectorielles telle que la fièvre catarrhale ovine, ou bien d'augmenter la motilité intestinale pour éliminer plus rapidement les nématodes. Cependant la définition de critères phénotypiques suffisamment pertinents pour attester précisément une telle « immunité globale » apparaît comme un problème majeur. L'immunité est un phénotype complexe qui

réclame un grand nombre de caractères pour la saisir dans sa globalité, et un grand effort de détection des gènes en jeu. Une autre conséquence serait de partager l'intensité de sélection dans un grand nombre de gènes posant alors la question de l'efficacité d'une telle approche. De plus augmenter la réponse immune globale peut induire une répression des mécanismes régulateurs conduisant alors à des phénomènes d'hypersensibilité ou des réponses autoimmunes.

Par ailleurs dans la plupart des situations de terrain les moutons sont confrontés à plusieurs pathogènes. Cela signifie qu'un mouton globalement résistant serait capable de réagir efficacement et rapidement à n'importe quel pathogène. Mais comme il a déjà été discuté auparavant (partie 1-1-2) les pathogènes extracellulaires sont éliminés par une réponse Th2, tandis que les virus le sont par une réponse Th1. Il apparait donc que les corrélations génétiques entre les maladies ne seront pas toujours aussi favorables que celles observées entre genres de parasites (Gruner *et al.* 2003). De plus il est probable que la sélection pour la résistance à une maladie augmente la sensibilité à une autre. En effet le CMH est par exemple connu pour contrôler la bonne orientation du système immunitaire, et de nombreuses études de détection de QTL ont démontré l'association entre le *CMH* ovin et la résistance aux maladies. C'est donc un gène candidat fort à sélectionner pour améliorer la résistance. Mais il est également démontré que des équilibrages se font entre allèles du CMH et les résistances (tableau 29), facteur donnant un avantage sélectif dans le cas d'infections simultanées (Wegner *et al.* 2004). Cela souligne également le danger sous-jacent à la sélection pour un nombre limité de gènes et le besoin de connaissances à propos des corrélations génétiques entre les résistances à plusieurs maladies.

**Tableau 29.** Equilibrages entre résistance aux maladies et allèles du CMH (Penn 1999)

Mouse MHC haplotype	Effect of host MHC on different infectious agents	
	Resistant	Susceptible
<i>k</i>	<i>Taenia</i> , <i>Giardia</i>	<i>Trichurus</i> , MAIDS, Theiler's virus
<i>d</i>	MAIDS, Theiler's virus, <i>Plasmodium</i> , <i>Giardia</i>	<i>Taenia</i>
<i>b</i>	Theiler's virus, Ectromelia, <i>Taenia</i> , <i>Trichurus</i> , <i>Heterakis</i>	<i>Heterakis polygyrus</i> , <i>Giardia</i> , <i>Plasmodium</i>
<i>q</i>	<i>H. polygyrus</i>	Theiler's virus, MAIDS

Note: MAID = Murine aquired immune deficiency syndrome

Pour passer outre ces problèmes, une possibilité pourrait être de sélectionner pour des mécanismes non-spécifiques, comme la phagocytose, qui apporterait à l'hôte des avantages face à la plupart des pathogènes. Une autre approche, démontrée avec succès chez le porc (Axford 2000), pourrait être de sélectionner pour une meilleure réponse aux vaccins même si le champ d'action d'une telle approche se limite strictement aux vaccins disponibles.

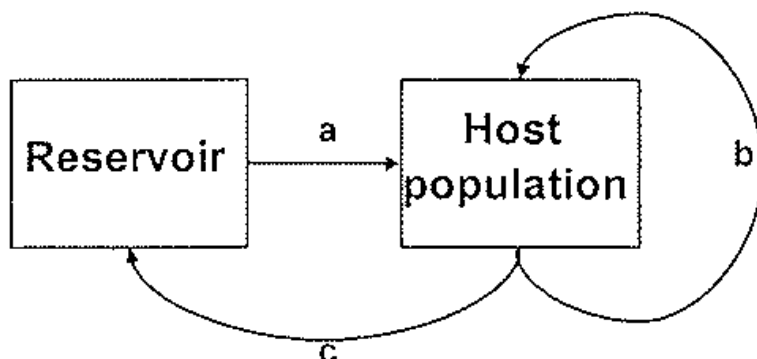
Sélectionner pour ces "super-moutons" peut également s'avérer défavorable d'un point de vue économique (Stear *et al.* 2001). En effet il est probable qu'une réponse immune efficace induise des contreparties dans le dépôt musculaire comme les différences de production observées entre les Black belly résistants aux strongles et le Berrichon du cher sensible aux strongles. Ce fonctionnement est vrai chez l'agneau naïf ce qui permet à l'animal d'atteindre la maturité sexuelle, alors que l'effort de reproduction de la brebis gestante l'emporte sur l'immunité (Coop & Kyriazakis 2001). Il sera donc nécessaire de mettre en place des index correctement équilibrés même si l'on peut se demander si les protéines requises sont les mêmes pour les processus de réparation et d'immunité d'une part et la croissance d'autre part. De plus les pertes de production devraient être compensées par le temps et l'argent économisés dans le contrôle des maladies.

#### 4.4.2. *L'épidémiologie doit être prise en compte* (Bishop 2002a)

Une des conclusions de ce qui précède est la place prépondérante de la prédiction des conséquences de la sélection pour la résistance aux maladies. Une telle prédiction est l'objet de l'épidémiologie qui évalue les effets des stratégies de contrôle classique, mais l'application à l'évaluation de la résistance génétique semble logique même si cela n'est pas souvent fait.

La première application logique qui ne réclame pas d'innovation particulière est de simplement surveiller, l'exemple parfait étant le programme d'éradication de la tremblante et la surveillance épidémiologique menée dans les abattoirs.

Par ailleurs, comme évoqué auparavant, les connaissances des corrélations entre les résistances à différentes maladies sont encore très minces. Il est donc indispensable de surveiller rigoureusement toute augmentation de l'incidence d'autres maladies dans des troupeaux sélectionnés pour la résistance à une autre maladie. Mais l'intégration de l'épidémiologie dans la génétique permet également de prédire l'évolution d'une épidémie. En effet Woolhouse *et al.* (1998), cité par Bishop (2002a) a utilisé un modèle épidémiologique en incorporant les génotypes de résistance à la tremblante pour comparer la sélection pour la résistance à la tremblante à d'autres alternatives (Stringer *et al.* 1998 cité par Bishop 2002a).



**Figure 19.** Voies de transmission des maladies (Bishop 2002a)

Par ailleurs la prise en compte des voies de transmission des pathogènes conduit à une meilleure compréhension des conséquences de la sélection pour la résistance (figure 19). Par exemple les infestations de nématodes reposent sur l'interaction entre un réservoir et une population (voies a et c, figure 19). En considérant ce schéma on peut intuitivement prédire que la sélection d'animaux résistants va contribuer à réduire leur excrétion d'œufs ce qui aboutira à une réduction du niveau de contamination de la pâture bénéficiant ainsi au troupeau complet. Dans le cas d'infections par des micro-organismes comme le virus de la fièvre aphteuse, le réservoir devient généralement infini et une épidémie repose souvent sur des contaminations d'hôte à hôte. Dans ce cas précis il y a interaction entre la population et le réservoir de la maladie puisque les particules virales peuvent résister plusieurs semaines dans l'environnement. Avec un tel modèle d'infection, il apparaît que, dans un troupeau résistant, la probabilité qu'une épidémie se déclare est plus faible, et que dans le cas où celle-ci se déclencherait, sa gravité serait moindre. Ceci met en lumière l'importance de sélectionner pour des animaux résistants et non pas tolérants ou résilients. En effet, des études par simulation ont montré que sélectionner des animaux pour leurs performances sous une pression d'infection constante aboutira à augmenter leur résilience, rendant la sélection plus facile (van der Waaij 2000). Mais d'un point de vue épidémiologique, la résilience n'a pas d'impact sur la transmission du pathogène, ce qui ne change donc pas la prévalence même si l'incidence diminue.

La plupart des pathogènes pour lesquels il est intéressant de sélectionner des animaux résistants ont développé des mécanismes de résistance aux traitements chimiques. En effet

lors de tels traitements, les pathogènes ayant une mutation leur permettant de survivre deviennent majoritaires et provoquent une brèche dans la stratégie de contrôle. Pour des raisons de durabilité il est donc nécessaire de combiner plusieurs approches pour éviter de tels échappements aux moyens de contrôle (Bishop 2002a). Sélectionner pour la résistance aux nématodes présente peu de dangers puisque la résistance mise en place est généralement incomplète, lente et varie entre les moutons. Par ailleurs des résultats encourageants ont montré que les vers ne s'adaptaient pas face à des moutons résistants (Kemper *et al.* 2008). Cependant il est nécessaire d'être rigoureux et de sélectionner plusieurs gènes de résistance tout en préservant l'hétérogénéité génétique des hôtes car : *"the fewer the genes underlying resistance, the less the obstacle to the pathogen and the greater the risk"* (Bishop 2002b).

On peut considérer que la sélection d'animaux résistants n'est pas suffisante pour assurer la sécurité du consommateur. En effet les connaissances des pathogènes et de leur pathogénicité sont loin d'être complètes et la plupart des animaux résistants sélectionnés jusqu'à présent n'avait pas une résistance totale. Par exemple les moutons résistants aux nématodes portent moins de vers que les individus sensibles mais restent tout de même infestés. Dans le cas de la tremblante, quelques rares cas ont été observés chez des animaux de génotype résistant. Il pourrait donc être plus pertinent de sélectionner les moutons pour leur sensibilité à une maladie de façon à être en mesure de détecter tout animal contaminé et donc d'éradiquer le pathogène. Cette stratégie a été mise en place en Islande (Moreno, communication personnelle) dans le cadre de la lutte contre la tremblante, et peut être utile dans le cadre d'une sélection contre des zoonoses. Cependant on peut s'interroger sur l'intérêt d'une telle stratégie dans le cas de maladies vectorielles comme la fièvre catarrhale ovine, ou dans le cas des maladies très contagieuses comme la fièvre aphteuse, le taux d'infection étant plus rapide que les mesures d'abattage.



## Conclusion

La génétique a prouvé être l'une des meilleures alternatives pour un contrôle durable des maladies majeures du mouton. La sélection classique est efficace contre les nématodes tandis que la SAG pour la résistance à la tremblante a été un succès jusqu'à présent. Par ailleurs les avancées récentes comme la sélection génomique ouvrent de nouveaux horizons pour augmenter l'efficacité de la sélection, tandis que les analyses transcriptomiques aideront à définir de possibles gènes candidats à sélectionner.

De plus de telles analyses seront utiles à une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents la résistance. En effet sélectionner pour la résistance aux maladies requiert une approche multidisciplinaire, en génétique tout d'abord, mais également en épidémiologie pour prédire les effets des programmes mis en place, et en immunologie, pour affiner les connaissances des interactions entre l'hôte et le pathogène. Dans ce dernier domaine, la génétique offre également des solutions en caractérisant la variabilité génétique du pathogène lui-même et son aptitude à s'adapter à son hôte.

Par ailleurs, il faut garder à l'esprit que l'animal n'est pas l'unique facteur lors des épidémies. L'éleveur et sa façon de mener son élevage, l'alimentation et les bâtiments d'élevage sont autant de facteurs qui jouent un rôle dans l'apparition de pathologies. La génétique n'a aucune emprise sur eux et il est donc nécessaire que la durabilité soit une partie intégrante des objectifs des éleveurs. Une volonté politique marquée et la mise en place de nouvelles législations, comme celle concernant l'usage des antibiotiques, ont également un rôle à jouer dans les orientations suivies par l'élevage.



## Références bibliographiques

- Altshuler D., Daly M.J. & Lander E.S. (2008) Genetic mapping in human disease. *Science* **322**, 881-8.
- Aumont G., Gruner L. & Hostache G. (2003) Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolates of *Haemonchus contortus* of Black Belly sheep in Guadeloupe (FWI) and of INRA 401 sheep in France. *Vet Parasitol* **116**, 139-50.
- Axford R., Bishop, S., Nicholas, F., Owen, J. (2000) *Breeding for disease resistance in farm animals* CABI publishing.
- Bader M.W., Sanowar S., Daley M.E., Schneider A.R., Cho U., Xu W., Klevit R.E., Le Moual H. & Miller S.I. (2005) Recognition of antimicrobial peptides by a bacterial sensor kinase. *Cell* **122**, 461-72.
- Barillet F., Jacquiet, P., Bishop, S., Arranz, J., Carta, A., Stear, M. (2006) Genesheepsafety, using genetics to improve the quality and safety of sheep products. *Project QLK5-CT-2000-00656*
- Barillet F., Rupp R., Mignon-Grasteau S., Astruc J.M. & Jacquin M. (2001) Genetic analysis for mastitis resistance and milk somatic cell score in French Lacaune dairy sheep. *Genet Sel Evol* **33**, 397-415.
- Barrow P.A. (2007) Salmonella infections: immune and non-immune protection with vaccines. *Avian Pathol* **36**, 1-13.
- Bartley D.J., Jackson E., Johnston K., Coop R.L., Mitchell G.B., Sales J. & Jackson F. (2003) A survey of anthelmintic resistant nematode parasites in Scottish sheep flocks. *Vet Parasitol* **117**, 61-71.
- Beever J.E., Smit M.A., Meyers S.N., Hadfield T.S., Bottema C., Albretsen J. & Cockett N.E. (2006) A single-base change in the tyrosine kinase II domain of ovine FGFR3 causes hereditary chondrodysplasia in sheep. *Anim Genet* **37**, 66-71.
- Beh K.J., Hulme D.J., Callaghan M.J., Leish Z., Lenane I., Windon R.G. & Maddox J.F. (2002) A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Anim Genet* **33**, 97-106.
- Benavides M.V., Weimer T.A., Borba M.F.S., Berne M.E.A. & Sacco A.M.S. (2002) Association between microsatellite markers of sheep chromosome 5 and faecal egg counts. *Small ruminant research* **46**, 97 - 105.
- Benestad S.L., Arsac J.N., Goldmann W. & Noremark M. (2008) Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. *Vet Res* **39**, 19.
- Benestad S.L., Sarradin P., Thu B., Schonheit J., Tranulis M.A. & Bratberg B. (2003) Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Vet Rec* **153**, 202-8.
- Bennett R. & Ijpelaar J. (2003) Economic assessment of Livestock Diseases in Great Britain - Final report to the Department for Environment, Food and Rural Affairs  
The University of Reading.
- Beraldi D., Craig B.H., Bishop S.C., Hopkins J. & Pemberton J.M. (2008) Phenotypic analysis of host-parasite interactions in lambs infected with *Teladorsagia circumcincta*. *Int J Parasitol*.
- Bergonier D., de Cremoux R., Rupp R., Lagriffoul G. & Berthelot X. (2003) Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res* **34**, 689-716.
- Berriatua E., Alvarez V., Extramiana B., Gonzalez L., Daltabuit M. & Juste R. (2003) Transmission and control implications of seroconversion to Maedi-Visna virus in Basque dairy-sheep flocks. *Prev Vet Med* **60**, 265-79.

- Bidanel J., Boichard, D., Chevalet, C. (2008) De la génétique à la génomique. *INRA Prod. Anim.* **21**, 15-32.
- Bishop S.C. (2002a) Breeding for disease resistance: uniting genetics and epidemiology. *Cours Supérieur d'Amélioration Génétique des Animaux Domestiques, Montpellier*, 95
- Bishop S.C., Bairden, K., McKellar, Q., Park, M., Stear, M. (1996) Genetic parameters for faecal egg count following mixed, natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection and relationships with live weight in young lambs. *Animal Science*, 423-8.
- Bishop S.C., Chesnais, J., Stear, M.J. (2002b) Breeding for disease resistance: issues and opportunities. *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production Montpellier*.
- Bishop S.C., Jackson, F., Coop, R., Stear, M. (2004) Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programmes. *Animal Science*, 185-94.
- Bishop S.C. & Morris C.A. (2007) Genetics of disease resistance in sheep and goats. *Small ruminant research*, 48-59.
- Blackwell J.M., Goswami T., Evans C.A., Sibthorpe D., Papo N., White J.K., Searle S., Miller E.N., Peacock C.S., Mohammed H. & Ibrahim M. (2001) SLC11A1 (formerly NRAMPI) and disease resistance. *Cell Microbiol* **3**, 773-84.
- Buitkamp J., Filmether P., Stear M.J. & Epplen J.T. (1996) Class I and class II major histocompatibility complex alleles are associated with faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Parasitol Res* **82**, 693-6.
- Cabaret J., Mage C. & Bouilhol M. (2002) Helminth intensity and diversity in organic meat sheep farms in centre of France. *Vet Parasitol* **105**, 33-47.
- Caron J., Loredó-Osti J.C., Laroche L., Skamene E., Morgan K. & Malo D. (2002) Identification of genetic loci controlling bacterial clearance in experimental *Salmonella enteritidis* infection: an unexpected role of Nramp1 (Slc11a1) in the persistence of infection in mice. *Genes Immun* **3**, 196-204.
- Churchill G.A. & Doerge R.W. (1994) Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* **138**, 963-71.
- Coop R.L. & Kyriazakis I. (2001) Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends Parasitol* **17**, 325-30.
- Cummings C., Relmann, C. (2000) Using DNA Microarrays to Study Host-Microbe Interactions. *Emerging infectious disease* **6**, 513-25.
- Davies G., Genini S., Bishop S.C. & Giuffra E. (2008) An assessment of opportunities to dissect host genetic variation in resistance to infectious diseases in livestock. *Animal* **3**, 415-36.
- Davies G., Stear, M.J., Bishop, S.C. (2005) Genetic relationships between indicator traits and nematode parasite infection levels in 6 months old lambs. *Anim. Sci.*, 143-50.
- de Koning D.J., Carlborg O. & Haley C.S. (2005) The genetic dissection of immune response using gene-expression studies and genome mapping. *Vet Immunol Immunopathol* **105**, 343-52.
- Dekkers J.C. (2004) Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *J Anim Sci* **82 E-Suppl**, E313-28.
- Delverdier (2006) Cours d'anatomie pathologique. Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse
- Dempster E.R. & Lerner L.M. (1950) Heritability of threshold characters. *Genetics* **35**.
- Diaz C., Vitezica Z.G., Rupp R., Andreoletti O. & Elsen J.M. (2005) Polygenic variation and transmission factors involved in the resistance/susceptibility to scrapie in a Romanov flock. *J Gen Virol* **86**, 849-57.

- Diez-Tascon C., Keane O.M., Wilson T., Zadissa A., Hyndman D.L., Baird D.B., McEwan J.C. & Crawford A.M. (2005) Microarray analysis of selection lines from outbred populations to identify genes involved with nematode parasite resistance in sheep. *Physiol Genomics* **21**, 59-69.
- Dodds K.G., McEwan J.C. , Davis G.H. (2007) Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small ruminant research*, Pages 32-41.
- Dominik S. (2005) Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review. *Genet Sel Evol* **37 Suppl 1**, S83-96.
- Dukkipati V.S., Blair H.T., Garrick D.J. & Murray A. (2006) 'Ovar-Mhc' - ovine major histocompatibility complex: structure and gene polymorphisms. *Genet Mol Res* **5**, 581-608.
- Duncan E.J., Dodds K.G., Henry H.M., Thompson M.P. & Phua S.H. (2007) Cloning, mapping and association studies of the ovine ABCG2 gene with facial eczema disease in sheep. *Anim Genet* **38**, 126-31.
- Eady S.J., Garreau H. & Gilmour A.R. (2007) Heritability of resistance to bacterial infection in meat rabbits. *Livestock science* **112**, 90-8.
- Eady S.J., Woolaston, R. R. , Ponzoni, R. W. , Lewer, R. P. , Raadsma, H. W., Swan, A. A. (1998) Resistance to nematode parasites in Merino sheep: correlation with production traits. *Australian Journal of Agricultural Research* **8**, 1201 - 12.
- EFSA (2007) The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the european union in 2006. *The EFSA Journal* **130**.
- Elsen J.M., Mangin B., Goffinet B., Boichard D. & Roy P.L. (1999) Alternative models for QTL detection in livestock. I. General introduction. *Genet Sel Evol* **31**, 213-24.
- Escayg A.P., Hickford J.G. & Bullock D.W. (1997) Association between alleles of the ovine major histocompatibility complex and resistance to footrot. *Res Vet Sci* **63**, 283-7.
- Euzéby (2004) Cours d'immunologie vétérinaire. Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse.
- Falconer D.S. & Mackay T.F.C. (1996) *Introduction to quantitative genetics*. Prentice Hall, Harlow.
- Fisher R.A. (1930) *The Genetical theory of natural selection*. Oxford University Press, Oxford.
- Galindo R.C., Munoz P.M., de Miguel M.J., Marin C.M., Blasco J.M., Gortazar C., Kocan K.M. & de la Fuente J. (2009) Differential expression of inflammatory and immune response genes in rams experimentally infected with a rough virulent strain of *Brucella ovis*. *Vet Immunol Immunopathol* **127**, 295-303.
- Gautier A.V., Lantier I. & Lantier F. (1998) Mouse susceptibility to infection by the *Salmonella abortusovis* vaccine strain Rv6 is controlled by the *Ity/Nramp 1* gene and influences the antibody but not the complement responses. *Microb Pathog* **24**, 47-55.
- Gicheha M.G. K.S., Bebe B.O. , Kahi A.K. (2007) Evaluation of the efficiency of alternative two-tier nucleus breeding systems designed to improve meat sheep in Kenya. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **123**, 247-57
- Gilbert H. (2003) Multidimensionnalité pour la détection de gènes influençant des caractères quantitatifs - Application à l'espèce porcine. p. 143. Institut National Agronomique Paris-Grigno, Paris.
- Gilbert H. & Le Roy P. (2003) Comparison of three multitrait methods for QTL detection. *Genet Sel Evol* **35**, 281-304.
- Gilmour A.R., Gogel B.J., Cullis B.R., Welham S.J. & Thompson R. (2006) ASReml user guide release 2.0. VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK.

- Goddard M.E. & Hayes B., J. (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics* **10**, 381-91.
- Goddard M.E. & Hayes B.J. (2007) Genomic selection. *J Anim Breed Genet* **124**, 323-30.
- Gohin I., Olivier M., Lantier I., Pepin M. & Lantier F. (1997) Analysis of the immune response in sheep efferent lymph during *Salmonella abortusovis* infection. *Vet Immunol Immunopathol* **60**, 111-30.
- Goldmann W. (2008) PrP genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. *Vet Res* **39**, 30.
- Good B., Hanrahan J.P., Crowley B.A. & Mulcahy G. (2006) Texel sheep are more resistant to natural nematode challenge than Suffolk sheep based on faecal egg count and nematode burden. *Vet Parasitol* **136**, 317-27.
- Green P., Falls K. & Crooks S. (1990) Documentation for CRI-MAP, version 2.4. Washington University School of Medicine, St. Louis, MO.
- Gruner L., Aumont G., Getachew T., Brunel J.C., Pery C., Cognie Y. & Guerin Y. (2003) Experimental infection of Black Belly and INRA 401 straight and crossbred sheep with trichostrongyle nematode parasites. *Vet Parasitol* **116**, 239-49.
- Gruner L., Bouix J. & Brunel J.C. (2004) High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in INRA 401 sheep. *Vet Parasitol* **119**, 51-8.
- Gutiérrez-Gil B., El-Zarei M.F., Bayo' n Y., Alvarez L., de la Fuente L.F., San Primitivo F. & Arranz J.J. (2007) Detection of Quantitative Trait Loci Influencing Somatic Cell Score in Spanish Churra Sheep. *Journal of Dairy Science*, 422-6.
- Hancock R.E. & McPhee J.B. (2005) *Salmonella*'s sensor for host defense molecules. *Cell* **122**, 320-2.
- Hayes B.J., Bowman P.J., Chamberlain A.J. & Goddard M.E. (2009) Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *J Dairy Sci* **92**, 433-43.
- Herrmann-Hoesing L., White, S., Mousel, M., Lewis, G., Knowles, D. (2008) Ovine progressive pneumonia provirus levels associate with breed and Ovar-DRB1. *Immunogenetics* **208**, 749-58.
- Houston F., Goldmann W., Chong A., Jeffrey M., Gonzalez L., Foster J., Parnham D. & Hunter N. (2003) Prion diseases: BSE in sheep bred for resistance to infection. *Nature* **423**, 498.
- Hu Z., Fritz, E., Reecy, J. (2007) AnimalQTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*.
- Hunter N. (2000) Transmissible Spongiform Encephalopathies. In: *Breeding for disease resistance in farm animals* (pp. 325-39. CAB International.
- Hunter N. (2007) Scrapie: uncertainties, biology and molecular approaches. *Biochim Biophys Acta* **1772**, 619-28.
- Jackson F. & Coop R.L. (2000) The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology* **120 Suppl**, S95-107.
- Jackson F. & Miller J. (2006) Alternative approaches to control--quo vadit? *Vet Parasitol* **139**, 371-84.
- Jansen R.C. & Nap J.P. (2001) Genetical genomics: the added value from segregation. *Trends Genet* **17**, 388-91.
- Janssen M. W.C., Gauly M., Erhardt G. (2002) Associations between infections with *Haemonchus contortus* and genetic markers on ovine chromosome 20. In: *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier.
- Janssens S. & Beyaert R. (2003) Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev* **16**, 637-46.

- Kao C.H., Zeng Z.B. & Teasdale R.D. (1999) Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* **152**, 1203-16.
- Kaplan R.M. (2004) Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitol* **20**, 477-81.
- Keane O.M., Dodds K.G., Crawford A.M. & McEwan J.C. (2007) Transcriptional profiling of *Ovis aries* identifies Ovar-DQA1 allele frequency differences between nematode-resistant and susceptible selection lines. *Physiol Genomics* **30**, 253-61.
- Keane O.M., Zadissa A., Wilson T., Hyndman D.L., Greer G.J., Baird D.B., McCulloch A.F., Crawford A.M. & McEwan J.C. (2006) Gene expression profiling of naive sheep genetically resistant and susceptible to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics* **7**, 42.
- Kemper K.E., Elwin R.L., Bishop S.C., Goddard M.E. & Woolaston R.R. (2008) *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* did not adapt to long-term exposure to sheep that were genetically resistant or susceptible to nematode infections. *Int J Parasitol*.
- Lacroux C., Nguyen T.H., Andreoletti O., Prevot F., Grisez C., Bergeaud J.P., Gruner L., Brunel J.C., Francois D., Dorchie P. & Jacquet P. (2006) *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Vet Res* **37**, 607-22.
- Laible G. (2008) Enhancing livestock through genetic engineering-Recent advances and future prospects. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*.
- Lamont S.J., Kaiser M.G. & Liu W. (2002) Candidate genes for resistance to *Salmonella enteritidis* colonization in chickens as detected in a novel genetic cross. *Vet Immunol Immunopathol* **87**, 423-8.
- Lander E. & Kruglyak L. (1995) Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat Genet* **11**, 241-7.
- Lander E.S. & Botstein D. (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* **121**, 185-99.
- Lantier F., Moreno, C., Lantier, I., Berthon, P., Sarradin, P., Marc, D., Andréoletti, O., Beaumont, C., Cribiu, E., Elsen, J.M. (2002) Molecular approaches to disease resistance. In: *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* Montpellier.
- Lantier F., Pardon P. & Marly J. (1981) Vaccinal properties of *Salmonella abortus ovis* mutants for streptomycin: screening with a murine model. *Infect Immun* **34**, 492-7.
- Leveque G., Forgetta V., Morroll S., Smith A.L., Bumstead N., Barrow P., Loredó-Osti J.C., Morgan K. & Malo D. (2003) Allelic variation in TLR4 is linked to susceptibility to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in chickens. *Infect Immun* **71**, 1116-24.
- Liu W., Miller M.M. & Lamont S.J. (2002) Association of MHC class I and class II gene polymorphisms with vaccine or challenge response to *Salmonella enteritidis* in young chicks. *Immunogenetics* **54**, 582-90.
- Lumaret J.P. & Errouissi F. (2002) Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures. *Veterinary research* **33**, 547-62.
- Lynch M. & Walsh B. (1998) Principles of marker-based analysis. In: *Genetics and Analysis of Quantitative Traits* (Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts).
- Maddox J.F. & Cockett N.E. (2007) An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources. *Small ruminant research* **70**, 4-20.
- Maillard (2001) Immunogénétique moléculaire de la sensibilité et de la résistance a la dermatophilose bovine. p. 351. Montpellier II.

- Malluci G., Dickinson A., Linehan J., Klöhn P., Brandner S. & Collinge J. (2003) Depleting Neuronal PrP in Prion Infection Prevents Disease and Reverses Spongiosis. *Science* **302**.
- McKenna P.B. (1981) The diagnosis value and interpretation of faecal egg counts in sheep. *N Z Vet J* **29**, 129-32.
- McLeod R.S. (1995) Costs of major parasites to the Australian livestock industries. *Int J Parasitol* **25**, 1363-7.
- Meuwissen T.H., Hayes B.J. & Goddard M.E. (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* **157**, 1819-29.
- Miller J.E., Bishop S.C., Cockett N.E. & McGraw R.A. (2006) Segregation of natural and experimental gastrointestinal nematode infection in F2 progeny of susceptible Suffolk and resistant Gulf Coast Native sheep and its usefulness in assessment of genetic variation. *Vet Parasitol* **140**, 83-9.
- Miller J.E. & Horohov D.W. (2006) Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. *J Anim Sci* **84 Suppl**, E124-32.
- Mittrucker H.W. & Kaufmann S.H. (2000) Immune response to infection with *Salmonella typhimurium* in mice. *J Leukoc Biol* **67**, 457-63.
- Moreno C. (2003) Analyse génétique de la sensibilité des ovins aux maladies infectieuses. p. 178. Institut National Agronomique Paris-Grignon Paris.
- Moreno C.R., Cosseddu G.M., Schibler L., Roig A., Moazami-Goudarzi K., Andreoletti O., Eychenne F., Lajous D., Schelcher F., Crihiu E.P., Laurent P., Vaiman D. & Elsen J.M. (2008) Identification of new quantitative trait Loci (other than the PRNP gene) modulating the scrapie incubation period in sheep. *Genetics* **179**, 723-6.
- Moreno C.R., Lantier F., Berthon P., Gautier-Bouchardon A.V., Boivin R., Lantier I., Brunel J.C., Weisbecker J.L., Francois D., Bouix J. & Elsen J.M. (2003) Genetic parameters for resistance to the *Salmonella abortusovis* vaccinal strain Rv6 in sheep. *Genet Sel Evol* **35**, 199-217.
- Morris C.A., Bisset S.A., Vlassof A., West C.J. & Wheeler M. (2004) Genetic parameters for *Nematodirus* spp. egg counts in Romney lambs in New Zealand. *Animal Science* **79**, 33-9.
- Moum T., Olsaker I., Hopp P., Moldal T., Valheim M. & Benestad S.L. (2005) Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *J Gen Virol* **86**, 231-5.
- Mrode R., Swanson, G. (1996) Genetic and statistical properties of somatic cell count and its suitability as an indirect means of reducing the incidence of mastitis in dairy cattle. *Animal Breeding abstracts* **64**.
- Müller M., Brem, G. (1996) Intracellular, genetic or congenital immunisation--transgenic approaches to increase disease resistance of farm animals. *J Biotechnol* **44**, 233-42.
- Nieuwhof G.J. & Bishop S.C. (2005) Costs of the major endemic diseases of sheep in Great Britain and the potential benefits of reduction in disease impact. *Animal Science* **81**, 23-9.
- Norris B.J., Colditz I.G. & Dixon T.J. (2008) Fleece rot and dermatophilosis in sheep. *Vet Microbiol* **128**, 217-30.
- Oesch B., Westaway, D., Walchli, M., McKinley, M., Kent, S., Aebersold, R., Barry, R., Temps, P., Teplow, D., Hood, L. (1985) A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell*, 735-46.
- Pardon P., Sanchis R., Marly J., Lantier F., Guilloteau L., Buzoni-Gatel D., Oswald I.P., Pepin M., Kauffer B., Berthon P. & et al. (1990) Experimental ovine salmonellosis (*Salmonella abortusovis*): pathogenesis and vaccination. *Res Microbiol* **141**, 945-53.



- Paterson S., Wilson, K., Pemberton, J. M. (1998) Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (*Ovis aries* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 3714–9.
- Penn D.J., Damjanovich K. & Potts W.K. (2002) MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple-strain infections. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 11260-4.
- Penn D.J., Wayne K. P. (1999) The Evolution of Mating Preferences and Major Histocompatibility Complex Genes. *The american naturalist* **153**, 145–64.
- Pfeffer A., Morris C.A., Green R.S., Wheeler M., Shu D., Bisset S.A. & Vlassoff A. (2007) Heritability of resistance to infestation with the body louse, *Bovicola ovis*, in Romney sheep bred for differences in resistance or resilience to gastro-intestinal nematode parasites. *Int J Parasitol* **37**, 1589-97.
- Phua S.H., Dodds K.G., Morris C.A., Henry H.M., Beattie A.E., Garmonsway H.G., Towers N.R. & Crawford A.M. (2008) A genome-screen experiment to detect quantitative trait loci affecting resistance to facial eczema disease in sheep. *Anim Genet*.
- Phua S.H., Dodds K.G., Morris C.A., Paterson K.A., McEwan J.C., Garmonsway H.G., Towers N.R. & Crawford A.M. (1999) Catalase gene is associated with facial eczema disease resistance in sheep. *Anim Genet* **30**, 286-95.
- Pitel F., Cribiu E.P., Yerle M., Lahbib-Mansais Y., Lanneluc I., Lantier F. & Gellin J. (1995) Regional localization of the ovine NRAMP gene to chromosome 2q41-->q42 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* **70**, 116-8.
- Prusiner S.B., Scott M.R., DeArmond S.J. & Cohen F.E. (1998) Prion protein biology. *Cell* **93**, 337-48.
- Raadsma H. & Fullard K. (2006) QTL mapping and gene markers for resistance to infectious diseases in sheep and cattle. In: *8th World Congress on Genetics Applied to Livestock production* Montpellier.
- Rothschild M.F., Skow L. & Lamont S.J. (2000) The Major Histocompatibility Complex and its role in disease resistance and immune responsiveness. In: *Breeding for disease resistance in farm animals* (pp. 73-105. CAB International 2000.
- Rupp R., Bergonier, D., Dion, S., Hygonenq, M., Aurel, M., Robert-Granié, C., Foucras, G. (2008) Response to somatic cell count-based selection for mastitis resistance in a divergent selection experiment in sheep. *Journal of Dairy Science*.
- Rupp R. & Boichard D. (2003) Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Vet Res* **34**, 671-88.
- Rupp R., Boichard, D., Barbat, A., Astruc, J.M., Lagriffoul, G., Barillet, F. (2002) Selection for mastitis resistance in french dairy sheep. In: *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier.
- Sadeyen J.R., Trotureau J., Velge P., Marly J., Beaumont C., Barrow P.A., Bumstead N. & Lalmanach A.C. (2004) Salmonella carrier state in chicken: comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. *Microbes Infect* **6**, 1278-86.
- Sayers G., Good B., Hanrahan J.P., Ryan M., Angles J.M. & Sweeney T. (2005) Major histocompatibility complex DRB1 gene: its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds. *Parasitology* **131**, 403-9.
- Schwaiger F.W., Gostomski D., Stear M.J., Duncan J.L., McKellar Q.A., Epplen J.T. & Buitkamp J. (1995) An ovine major histocompatibility complex DRB1 allele is associated with low faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Int J Parasitol* **25**, 815-22.
- Shaw R.J., Morris, C. A., Green, R. S., Wheeler, M., Bisset, S. A., Vlassoff, A., Douch, P. G. C. (1999) Genetic and phenotypic relationships among *Trichostrongylus colubriformis*-

- specific immunoglobulin E, anti-Trichostrongylus colubriformis antibody, immunoglobulin G1, faecal egg count and body weight traits in grazing Romney lambs. *Livestock Production Science* **58**, 25-32.
- Smith J.L., Colditz I. G., Piper L. R., Sandeman, R. M., S. Dominik (2008) Genetic resistance to growth of *Lucilia cuprina* larvae in Merino sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **48**, 1210-6.
- Stear M.J., Abuagob O., Benothman M., Bishop S.C., Innocent G., Kerr A. & Mitchell S. (2006) Variation among faecal egg counts following natural nematode infection in Scottish Blackface lambs. *Parasitology* **132**, 275-80.
- Stear M.J., Bishop S.C., Mallard B.A. & Raadsma H. (2001) The sustainability, feasibility and desirability of breeding livestock for disease resistance. *Res Vet Sci* **71**, 1-7.
- Stear M.J., Strain S. & Bishop S.C. (1999a) How lambs control infection with *Ostertagia circumcincta*. *Vet Immunol Immunopathol* **72**, 213-8.
- Stear M.J., Strain S. & Bishop S.C. (1999b) Mechanisms underlying resistance to nematode infection. *Int J Parasitol* **29**, 51-6; discussion 73-5.
- Stringer S.M., Hunter N. & Woolhouse M.E. (1998) A mathematical model of the dynamics of scrapie in a sheep flock. *Math Biosci* **153**, 79-98.
- Sweeney T. & Hanrahan J.P. (2008) The evidence of associations between prion protein genotype and production, reproduction, and health traits in sheep. *Vet Res* **39**.
- Terefe G., Lacroux C., Andreoletti O., Grisez C., Prevot F., Bergeaud J.P., Penicaud J., Rouillon V., Gruner L., Brunel J.C., Francois D., Bouix J., Dorchie P. & Jacquiet P. (2007) Immune response to *Haemonchus contortus* infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs. *Parasite Immunol* **29**, 415-24.
- Tilquin (2003) Methodological aspects of the mapping of disease resistance loci in livestock. p. 263. Université catholique de Louvain, Louvain.
- Tilquin P., Barrow P.A., Marly J., Pitel F., Plisson-Petit F., Velge P., Vignal A., Baret P.V., Bumstead N. & Beaumont C. (2005) A genome scan for quantitative trait loci affecting the *Salmonella* carrier-state in the chicken. *Genet Sel Evol* **37**, 539-61.
- van der Waaij E.H., Bijma, P., Bishop, S. C., van Arendonk J. A. (2000) Modeling selection for production traits under constant infection pressure. *Journal of Animal Science* **78**, 2809-20.
- van der Werf J., Marshall, K., Sanghong Lee (2007) Methods and experimental designs for detection of QTL in sheep and goats. *Small ruminant research*, 21-31.
- Vidal S., Gros P. & Skamene E. (1995) Natural resistance to infection with intracellular parasites: molecular genetics identifies *Nramp1* as the *Bcg/Ity/Lsh* locus. *J Leukoc Biol* **58**, 382-90.
- Vitezica Z.G., Moreno C.R., Bodin L., Francois D., Barillet F., Brunel J.C. & Elsen J.M. (2006) No associations between PrP genotypes and reproduction traits in INRA 401 sheep. *J Anim Sci* **84**, 1317-22.
- Vu Tien Khang J., Elsen J.M., Lantier F. & Gruner L. (1997) Amélioration génétique del a resistance des ovins aux maladies infectieuses et parasitaires - éléments de reflexion. *Subnetwork on animal resources* **FAO-CIHEAM, Toulouse**, 10pp.
- Waller P.J. (1997) Anthelmintic resistance. *Vet Parasitol* **72**, 391-405; discussion -12.
- Wegner K.M., Kalbe M., Schaschl H. & Reusch T.B. (2004) Parasites and individual major histocompatibility complex diversity--an optimal choice? *Microbes Infect* **6**, 1110-6.
- Whitlock H.V. (1948) Some modifications of the McMaster helminth egg-counting technique and apparatus. *J. Count. Sci. Ind. Res.* **21**, 177-80.
- Wigley P. (2004) Genetic resistance to *Salmonella* infection in domestic animals. *Res Vet Sci* **76**, 165-9.

- Winter M.D. (2002) *Nematodirus battus* 50 years on--a realistic vaccine candidate? *Trends Parasitol* **18**, 298-301.
- Wolf B.T., Howells K., Nakielny C., Haresign W., Lewis R.M., Davies O. & Davies M.H. (2007) Genetic parameters for strongyle and *Nematodirus* faecal egg counts in lambs and their relationships with performance traits. *Livestock science* **113**, 209-17.
- Woolhouse M.E., Stringer S.M., Matthews L., Hunter N. & Anderson R.M. (1998) Epidemiology and control of scrapie within a sheep flock. *Proc Biol Sci* **265**, 1205-10.
- Wright S. (1934) An Analysis of Variability in Number of Digits in an Inbred Strain of Guinea Pigs. *Genetics* **19**, 506-36.
- Zaharik M.L., Vallance B.A., Puente J.L., Gros P. & Finlay B.B. (2002) Host-pathogen interactions: Host resistance factor Nramp1 up-regulates the expression of Salmonella pathogenicity island-2 virulence genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 15705-10.
- Zeng Z.B. (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* **136**, 1457-68.

Toulouse, 2009

NOM : Sallé

Prénom : Guillaume

TITRE : FACTEURS GENETIQUES DE LA RESISTANCE AUX MALADIES CHEZ LE MOUTON

RESUME : Cette thèse fait la synthèse des connaissances sur la génétique des résistances considérée comme l'une des alternatives les plus efficaces et les plus durables de contrôle des pathologies majeures en élevage ovin. La sélection génétique de moutons résistants est basée sur l'optimisation de mécanismes de résistance, par l'intermédiaire de caractères phénotypiques pertinents mais complexes à déterminer. Les caractères cliniques ou immunologiques présentent généralement des héritabilités autour de 0.3, et des régions chromosomiques (QTL) ont été détectées pour ces caractères. Par ailleurs, les études d'associations et l'émergence de la génomique fonctionnelle élargissent le spectre de recherche en s'intéressant aux gènes candidats, comme le *CMH* qui joue un rôle clé dans la réponse immunitaire. Cette discussion met en lumière l'efficacité des schémas de sélection classique, notamment pour la résistance aux nématodes ou aux mammites, tandis qu'une vue d'ensemble de la sélection assistée par gène mise en place contre la tremblante décrit les enjeux d'une telle méthode. Des illustrations pratiques d'estimation de paramètres génétiques et de cartographie d'intervalle pour des caractères de résistance sont exposées. La sélection pour de tels caractères doit être menée avec précaution : les corrélations avec les caractères de production ne sont pas toujours favorables, et les corrélations entre les résistances à plusieurs maladies ne sont pas, à l'heure actuelle, précisées. Une des priorités de ce champ de recherche est la caractérisation fine des interactions hôte-pathogène, par l'épidémiologie et l'immunologie d'une part, ou la génétique du pathogène lui-même d'autre part.

MOTS-CLES : résistance – mouton – immunogénétique – génétique - sélection

---

ENGLISH TITLE : GENETIC FACTORS OF DISEASE RESISTANCE IN SHEEP

ABSTRACT : We shortly review the knowledge in genetic of resistance as one of the most efficient and sustainable alternatives to problems linked to classical control of major diseases in sheep industry.

This selection is based on the optimization of the resistance mechanisms that are complex to monitor through pertinent indicators. Clinical or immune traits generally show heritability around 0.3, and quantitative trait loci (QTL) have been detected for those traits. Besides association studies and the developing functional genomic broaden the scope of research with investigations about candidate genes, like *MHC* known to be a key factor in the immune response. This discussion enlightens the efficiency of classical selection approach, especially in the case of nematodes resistance and mastitis, while an overview of the gene assisted selection implemented against scrapie describes the at stakes issues with such method. Some illustrations tackling the estimation of genetic parameters and QTL mapping for resistance traits are also exposed. Selecting for such trait has to be carefully performed as correlations with performances are not always consistent, and correlations between diseases have not yet been enough acknowledged. Refining the host-pathogen interactions is a priority in this field of research, either with epidemiology and immunology, or with characterization of the genetic variation of the pathogen itself.

KEYWORDS : resistance – sheep – immunogenetic – genetic - selection